



FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina

APLICACIONES DE LA GENÉTICA A LA CARDIOLOGÍA

CLÍNICA:

HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR Y MIOCARDIOPATÍA DILATADA

ALCOHÓLICA

TESIS DOCTORAL

M^a Almudena Amor Salamanca

Madrid, 2018

Memoria de investigación presentada por

M^a Almudena Amor Salamanca

Para optar al grado de

Doctora en Medicina

por la Universidad Autónoma de Madrid

DIRECTOR

Dr. Pablo García Pavía

Profesor Honorario, Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Madrid

Coordinador Unidad de Cardiopatías Familiares

Servicio de Cardiología

Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda

TUTOR

Dr. Luis A. Alonso-Pulpón Rivera

Profesor Titular, Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Madrid

Jefe del Servicio de Cardiología

Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda

La presente tesis ha sido realizada en la Unidad de Insuficiencia Cardíaca y Cardiopatías Familiares del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda (Madrid, España), con la colaboración del National Heart and Lung Institute del Imperial College de Londres (Reino Unido) y de los siguientes hospitales españoles: Hospital Universitario de Bellvitge (Barcelona), Hospital Joan XXIII (Tarragona), Hospital Clínico de Valencia, Hospital Virgen de la Arrixaca (Murcia) y Hospital Virgen de la Victoria (Málaga).



Imperial College
London



FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina

A mis padres, que me transmitieron los valores de la honestidad y el trabajo diario.

A Julio y a Lucía por llenar mi vida de sentido.

*Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica:
la voluntad.*

Albert Einstein.

AGRADECIMIENTOS

En el momento de finalizar estas páginas es inevitable que vengan a mi cabeza los nombres de tantas personas que de una u otra forma han contribuido a hacerlas realidad. Nombrarlas a todas en unas pocas líneas es imposible, la mayoría quedarán en mi recuerdo agradecido.

La tesis doctoral es el punto culminante de la vida académica, por lo que son multitud los profesores que se han ido cruzando conmigo a lo largo de los años y las diferentes etapas. Ellos han ido modelando mi forma de pensar, trabajar y estar en el mundo. A ellos les debo toda mi gratitud.

Durante mi formación como médico tuve la inmensa suerte de tropezarme con el Dr. José Luis Rodrigo López, cardiólogo en el Hospital Clínico de San Carlos y maestro de cardiólogos. Él me enseñó no sólo lo bonita que es la Cardiología, sino que me mostró el modelo de médico en el que yo quería (y quiero) convertirme, poniendo siempre al paciente en el centro de cualquier decisión.

Mi agradecimiento también a todos los miembros del Servicio de Cardiología del Hospital Clínico Universitario de Salamanca, donde me formé como cardióloga. Allí aprendí la importancia de la Clínica en la Medicina, que siempre primará por encima de las técnicas.

Gracias a todo el Servicio de Cardiología del Hospital Universitario Puerta de Hierro, especialmente a la Unidad de Insuficiencia Cardíaca y Cardiopatías Familiares. Gracias al Dr. Luis Alonso-Pulpón, Jefe del servicio y puntal de la Cardiología y el Trasplante en España, que amablemente aceptó tutorizar esta tesis, y nunca ha dejado de tener palabras de aliento para mí. A las enfermeras Ana

Briceño y Cristina de Simón, sin cuya ayuda no habría podido recoger todas las muestras del estudio. A la Dra. Ana Royuela por su asesoría en la metodología estadística, siempre dispuesta a echar una mano. A mis compañeros de la Unidad que hicieron mucho más fácil todo el trabajo.

Mil gracias a todos los profesionales de los diferentes centros (de España e Inglaterra) que han colaborado en este proyecto. A todos los pacientes que han donado generosamente su tiempo y sus muestras para que pudieran realizarse los estudios.

Y dejo para el final a la persona a quien le debo el buen fin de estas páginas: al Dr. Pablo García-Pavía, director de mi tesis y coordinador de la Unidad de Cardiopatías Familiares del Hospital Puerta de Hierro. Gracias por abrirme las puertas de la Unidad para formarme, por confiar en mí al encargarme este proyecto y por tu magistral dirección. Admiro profundamente tu solidez como médico, tu enorme capacidad de trabajo y el gran servicio que estás prestando a los enfermos con cardiopatías familiares en España.

Por último, ni este trabajo ni nada en mi vida podría haberse realizado sin el apoyo de mi familia. Gracias a mis padres para quienes sin duda la formación humana y académica que han dado a sus hijos es la mejor herencia que nos podían dejar. Gracias por vuestros silenciosos sacrificios que sólo hoy como madre puedo apreciar en todo lo que valen. Gracias a mis hermanos, por ser mis primeros compañeros y maestros. Y gracias a Julio, mi marido, mi apoyo constante e incondicional, sin tu ayuda y tu comprensión nada de esto habría salido adelante.

El presente trabajo, realizado para optar al grado de Doctora en Medicina, se compone de dos estudios diferenciados destinados ambos a analizar la contribución de la genética a la cardiología clínica.

Los títulos individuales de cada uno de los estudios son los siguientes:

- **HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR CONFIRMADA GENÉTICAMENTE EN PACIENTES CON SÍNDROME CORONARIO AGUDO.**
- **UNA ETIOLOGÍA GENÉTICA PARA LA TOXICIDAD CARDÍACA INDUCIDA POR EL ALCOHOL**

Este trabajo se ha podido llevar a cabo gracias a la financiación procedente de los siguientes proyectos de investigación:

SAF2015-71863-REDT. Estudio de las interacciones genéticas y mecanísticas en la miocardiopatía familiar mediante modelaje avanzado de la enfermedad. Convocatoria Redes de excelencia 2015. Ministerio de Economía y Competitividad. IP: Dr. García Pavía.

RD12/0042/0066. Red Nacional de Investigación Cardiovascular RIC. Ministerio de Sanidad y Consumo. IP Jefe de grupo: Dr. Alonso-Pulpón.

Alexion Investigator Initiated Research Grant. PREVALENCE OF GENETIC HYPERCHOLESTEROLEMIA IN PATIENTS WITH MYOCARDIAL INFARCTION. IP: Dr. García Pavía.

CB16/11/00432. CONSORCIO CIBER CARDIOVASCULAR. Instituto de Salud Carlos III. IP: Dr. García Pavía.

PI15/01551. Instituto de Salud Carlos III: Papel de los factores genéticos en la patogenia de la Miocardiopatía Alcohólica. IP: Dr. Alonso-Pulpón.

Publicaciones y comunicaciones a congresos derivadas de este trabajo:**Artículos:**

Amor-Salamanca A, Castillo S, González-Vioque E, Domínguez F, Quintana L, Lluís-Ganella C, Escudier JM, Ortega J, Lara-Pezzi E, Alonso-Pulpón L, García-Pavía P. Genetically confirmed Familial Hypercholesterolemia in patients with acute coronary syndrome. J Am Coll Cardiol 2017; 70:1732-1740.

Ware JS*, **Amor-Salamanca A***, Tayal U, Govind R, Serrano I, Salazar-Mendiguchía J, García-Pinilla JM, Pascual-Figal DA, Nuñez J, Guzzo-Merello G, González-Vioque E, Bardaji A, Manito N, López-Garrido A, Padron-Barthe L, Edwards E, Whiffin N, Walsh R, Buchan RJ, Midwinter W, Wilk A, Prasad S, Pantazis A, Baski J, O'Regan DP, Alonso-Pulpón L, Cook SA, Lara-Pezzi E, Barton PJ, García-Pavía P. Genetic etiology for alcohol-induced cardiac toxicity. J Am Coll Cardiol 2018; 71:2293-2302. *Co-primeros autores.

Amor-Salamanca A*, Guzzo-Merello G*, González-López E, Domínguez F, Restrepo-Córdoba A, Cobo-Marcos M, Gómez-Bueno M, Segovia-Cubero J, Alonso-Pulpón L, García-Pavía P. Impacto pronóstico y factores predictores de la recuperación de la fracción de eyección en pacientes con miocardiopatía dilatada alcohólica. Rev Esp Cardiol 2018; 71: 612-619. *Co-primeros autores.

Comunicaciones a congresos:

- **Predictors of left ventricular ejection fraction recovery in alcoholic cardiomyopathy.** Almudena Amor-Salamanca, Gonzalo Guzzo-Merello, Esther González-López, Fernando Domínguez, Marta Cobo-Marcos, Manuel Gómez Bueno, Javier Segovia, Luis Alonso-Pulpón, Pablo García-Pavía. XIII Meeting of the Myocardial and Pericardial Disease Working Group of the ESC. Rostock, Alemania, 13-15 octubre 2016.

- **Predictores de recuperación de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo e implicaciones pronósticas en la miocardiopatía dilatada alcohólica.** Almudena Amor-Salamanca, Gonzalo Guzzo-Merello, Marta Cobo Marcos, Esther González-López, Fernando Domínguez Rodríguez, Javier Segovia Cubero, Pablo García Pavía, Luis Alonso-Pulpón. Congreso de la Sociedad Española de Cardiología. Zaragoza. 27-29 Octubre 2016.

- **Prevalence of genetically confirmed familial hypercholesterolemia in patients with acute coronary syndrome.** Almudena Amor-Salamanca, Sergio Castillo, Emiliano Gonzalez-Vioque, Fernando Domínguez, Lucía Quintana, Carla Lluís-Ganella, Juan Manuel Escudier, Javier Ortega, Enrique Lara-Pezzi, Luis Alonso-Pulpon, Pablo Garcia-Pavia. Congreso Europeo de Cardiología ESC Barcelona agosto 26-30 agosto 2017.

- **Prevalencia de hipercolesterolemia familiar confirmada genéticamente en pacientes jóvenes con síndrome coronario agudo.** Almudena Amor-Salamanca, Pablo García-Pavía, Sergio Castillo, Fernando Domínguez, Lucía Quintana, Juan Manuel Escudier, Javier Ortega Marcos y Luis

Antonio Alonso Pulpón. Congreso de la Sociedad Española de Cardiología. Madrid
26-28 octubre 2017.

Otros trabajos y comunicaciones realizados durante la elaboración de esta tesis:

López-Sainz A, de Haro-del Moral FJ, Domínguez F, Restrepo-Córdoba A, **Amor-Salamanca A**, Hernández-Hernández A, Krsnik I, Cobo-Marcos M, Castro V, Toquero-Ramos J, Lara-Pezzi E, Fernández-Lozano I, Alonso-Pulpón L, González-López E, García-Pavía P. Prevalence of cardiac amyloidosis among elderly patients with systolic heart failure or conduction disorders. En evaluación.

Trastornos de conducción en 154 pacientes con Amiloidosis Hereditaria por Transtirretina en España. E. González-López, **A. Amor Salamanca**, J. González-Costello, J. Pons Llinares, F Muñoz-Beamud, S. Azorin, JJ. Vichez Padilla, P. García-Pavía. Congreso de la Sociedad Española de Cardiología. Zaragoza. 27-29 Octubre 2016.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	31
Introducción.....	31
Objetivos.....	33
Métodos.....	34
Resultados.....	34
Conclusiones.....	35
CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN.....	39
1.1 MEDICINA GENÉTICA CARDIOVASCULAR: CONCEPTO, DESARROLLO Y APLICACIONES CLÍNICAS.....	39
1.2 HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR: CONCEPTO, EPIDEMIOLOGÍA, ETIOLOGÍA.....	42
1.2.1 Diagnóstico de la hipercolesterolemia familiar.....	44
1.2.2 Tratamiento de la hipercolesterolemia familiar.....	49
1.3 MIOCARDIOPATÍA DILATADA Y MIOCARDIOPATÍA DILATADA ALCOHÓLICA.....	52
1.3.2 Miocardiopatía dilatada: concepto, diagnóstico y etiología.....	56
1.3.3 Miocardiopatía dilatada alcohólica: concepto, fisiopatología y epidemiología.....	63
1.3.4 Miocardiopatía dilatada alcohólica: historia natural, clínica, diagnóstico y tratamiento.....	65
CAPITULO 2. HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR CONFIRMADA GENÉTICAMENTE EN PACIENTES CON SÍNDROME CORONARIO AGUDO.....	71
2.1 OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....	71
2.2 HIPÓTESIS.....	71
2.3 MATERIAL Y MÉTODOS.....	71
2.3.1 Diseño y población del estudio.....	71

2.3.2 Criterios clínicos de HF.....	73
2.3.3 Secuenciación de ADN	74
2.3.4 Datos sobre las variantes y clasificación	75
2.3.5 Análisis estadístico.....	76
2.4 RESULTADOS.....	77
2.5 DISCUSIÓN	88
2.6 LIMITACIONES.....	95
 CAPÍTULO 3. UNA ETIOLOGÍA GENÉTICA PARA LA TOXICIDAD CARDIACA INDUCIDA POR ALCOHOL.....	 99
3.1 OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....	99
3.2 HIPÓTESIS	99
3.3 MATERIAL Y MÉTODOS.....	99
3.3.1 Diseño y población del estudio	99
3.3.2 Cohorte de miocardiopatía dilatada alcohólica (MCA).....	100
3.3.3 Cohorte de miocardiopatía dilatada	101
3.3.4 Cohorte de voluntarios sanos	102
3.3.5 Análisis genético mediante secuenciación de “nueva generación” y análisis de las variantes.....	102
3.3.6 Análisis estadístico.....	104
3.4 RESULTADOS.....	106
3.5 DISCUSIÓN	119
3.6 LIMITACIONES.....	127
 CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES.....	 131

CAPÍTULO 5. ANEXOS 135

Anexo 1. Análisis de datos de variantes del estudio: “Hipercolesterolemia familiar confirmada genéticamente en pacientes con síndrome coronario agudo”135

Anexo 2. Análisis de datos de variantes del estudio: “Una etiología genética para la toxicidad cardíaca inducida por el alcohol”136

BIBLIOGRAFÍA: 141**ARTÍCULOS PUBLICADOS..... 151**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1A. Clasificación de las miocardiopatías según la American Heart Association.....	54
Figura 1B. Clasificación de las miocardiopatías según la Sociedad Europea de Cardiología	55
Figura 2. Espectro clínico de la miocardiopatía dilatada	59
Figura 3. Representación del sarcómero y estructura del gen <i>TTN</i>	62
Figura 4. Proceso de selección de pacientes con síndrome coronario agudo participantes en el estudio	73
Figura 5. Resultados del estudio genético realizado en pacientes con síndrome coronario agudo.....	84
Figura 6. Resultados de programas de screening genético de hipercolesterolemia familiar.....	89
Figura 7. Distribución de los truncamientos en el gen de la <i>TTN</i> identificados en las cohortes de miocardiopatía dilatada alcohólica, miocardiopatía dilatada idiopática y voluntarios sanos.....	116
Figura 8. Análisis de supervivencia en los casos de miocardiopatía dilatada alcohólica según el genotipo	119
Figura 9. Influencia del alcohol y la situación genética en el fenotipo cardiaco...	121
Figura 10. Árboles familiares ilustrativos de la coexistencia entre miocardiopatía dilatada alcohólica e idiopática y el efecto combinado del consumo excesivo de alcohol y la herencia genética.....	123

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Enfermedades cardiovasculares monogénicas (mendelianas) y poligénicas	41
Tabla 2. Criterios de la Red Holandesa de Lípidos (DLC).....	45
Tabla 3. Criterios Make Early Diagnosis to Prevent Early Death (MEDPED)	46
Tabla 4. Criterios del registro de Simon Broome (SB)	47
Tabla 5. Clasificación de las miocardiopatías según la Sociedad Europea de Cardiología	56
Tabla 6. Causas de miocardiopatía dilatada.....	60
Tabla 7. Características clínicas basales de la cohorte	78
Tabla 8. Prevalencia de HF según los criterios clínicos vs el estudio genético.....	79
Tabla 9. Variantes genéticas identificadas en pacientes con SCA	80
Tabla 10. Evaluación familiar en pacientes con mutaciones patogénicas/probablemente patogénicas para HF o VSI.....	82
Tabla 11. Características de los pacientes con SCA con y sin HF genéticamente confirmada	85
Tabla 12. Puntuaciones según criterios clínicos de los pacientes con o sin mutación para HF.....	86
Tabla 13. Niveles de LDL colesterol un año después del SCA en pacientes con HF genéticamente confirmada	87
Tabla 14. Características clínicas basales de las tres cohortes de pacientes.....	101
Tabla 15. Genes de miocardiopatía dilatada y clases de variantes incluidas en el análisis	103

Tabla 16. Listado completo de genes analizados.....	105
Tabla 17. Análisis de la carga de variantes en genes relacionados con miocardiopatía dilatada en las diferentes cohortes.....	107
Tabla 18. Resumen de las variantes identificadas en casos de miocardiopatía dilatada alcohólica, casos emparejados de miocardiopatía dilatada y voluntarios sanos (VS).....	108
Tabla 19A. Listado de variantes individuales detectadas en la cohorte de miocardiopatía dilatada alcohólica (MCA).....	109
Tabla 19B. Listado de variantes individuales detectadas en las cohortes de miocardiopatía dilatada (MCD) y voluntarios sanos (VS).....	111
Tabla 20. Características de casos de MCA con y sin variantes de truncamiento en <i>TTN</i>	117
Tabla 21. Características clínicas de la cohorte de MCA basadas en el genotipo .	118

RESUMEN

RESUMEN

Introducción

La medicina genética cardiovascular es un área emergente dedicada a identificar y comprender las afecciones cardíacas hereditarias y al desarrollo y validación de los algoritmos y las pautas para su diagnóstico y tratamiento. Las consultas especializadas en genética cardiovascular brindan asesoramiento y pruebas genéticas y proporcionarán terapias específicas.

Aunque prácticamente todas las enfermedades cardiovasculares tienen un componente genético, es en las enfermedades monogénicas en las que ha sido posible avanzar más. Entre ellas destacan las miocardiopatías (dilatada, hipertrófica, restrictiva, arritmogénica, etc), canalopatías (Síndrome de QT largo y corto, Brugada, etc), y otras como la hipercolesterolemia familiar o el síndrome de Marfan.

La hipercolesterolemia familiar (HF) es una enfermedad autosómica dominante causada por un trastorno del metabolismo de los lípidos de origen genético, que provoca una elevada concentración plasmática de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL-C). La exposición prolongada a altos niveles de LDL-C acelera la enfermedad cardiovascular aterosclerótica, y, especialmente, la enfermedad coronaria, que sin tratamiento aparecerá de forma precoz. En el 79% de los casos la HF es causada por mutaciones en el gen del receptor de LDL. Mutaciones en los genes APOB Y PCSK9 representan el 5% y el 1% de los casos respectivamente. El restante 15% son de origen poligénico o causado por otras mutaciones todavía no identificadas.

El diagnóstico de HF se realiza mediante criterios clínicos y pruebas genéticas. Las principales características del trastorno son la concentración plasmática elevada de LDL-C, signos físicos típicos (xantomas tendinosos o arco corneal) y los antecedentes familiares de enfermedad coronaria prematura. Todos ellos se han utilizado para desarrollar scores diagnósticos de HF. Los principales son los criterios de la Red Holandesa de Lípidos (DLCN), los criterios Make Early Diagnosis to Prevent Early Death (MEDPED) y los del Registro Simon Broome (SB). El estudio genético puede confirmar un diagnóstico clínico o ayudar a identificar a los casos índices, cuyos familiares requerirán pruebas de detección. Mejorar la detección precoz de la HF es esencial para la reducción efectiva de la morbilidad y la mortalidad de los pacientes con enfermedad cardiovascular.

La miocardiopatía dilatada (MCD) es una enfermedad del músculo cardíaco, caracterizada por dilatación y disfunción sistólica del ventrículo izquierdo en ausencia de enfermedad coronaria o condiciones de carga anormales suficientes para causar disfunción sistólica global. Los pacientes afectados pueden desarrollar insuficiencia cardíaca, arritmias y muerte súbita. La MCD se estima que afecta a una de cada 250 personas y es la causa más frecuente de insuficiencia cardíaca en pacientes jóvenes, el tipo más común de miocardiopatía y la primera causa de trasplante cardíaco a nivel mundial. La MCD no se trata de una entidad única, sino de una vía final común en respuesta a una serie de insultos genéticos y ambientales sobre el miocardio, que originarían este fenotipo.

Las causas de MCD se pueden clasificar en genéticas y no genéticas, aunque en determinadas circunstancias la predisposición genética podría interactuar con factores extrínsecos o ambientales. Hay amplios datos sobre la etiología familiar en

la MCD, suponiendo entre el 30-50% de todos los casos de MCD. Dentro de las causas no genéticas, varios compuestos químicos pueden inducir MCD, los más comunes son el consumo excesivo de alcohol y los agentes quimioterápicos.

La miocardiopatía dilatada alcohólica (MCA) se caracteriza por dilatación y disfunción del ventrículo izquierdo. Su diagnóstico es de exclusión, en un paciente con MCD en el que se han descartado otras causas y que presenta una historia de abuso prolongado de alcohol, clásicamente >80 gramos diarios durante más de 5 años. La miocardiopatía dilatada alcohólica representa en algunos estudios el 21-32% de los casos de MCD, aumentando en otros hasta el 40%, por lo que se considera la principal causa de miocardiopatía dilatada no isquémica en nuestro medio.

Las manifestaciones clínicas de la MCA aparecen cuando el daño es avanzado y en algunos casos irreversible. Los síntomas están relacionados con la disminución del gasto cardiaco, y no difieren de los presentes en los casos de insuficiencia cardiaca de otras etiologías: disnea, inicialmente de esfuerzo, edema periférico, cansancio. En cuanto al tratamiento los pacientes deben suspender el consumo de alcohol, tras lo cual muchos pacientes recuperan la función sistólica. Además deben recibir tratamiento betabloqueante, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) o antagonistas de los receptores de angiotensina (ARA2). A esto se añadirían otros fármacos y dispositivos en función de la persistencia de síntomas, la evolución clínica o la presencia de arritmias.

Objetivos

Evaluar la prevalencia de HF confirmada mediante estudio genético en pacientes que han sufrido un síndrome coronario agudo (SCA) y comparar el rendimiento

diagnóstico del estudio genético frente a los criterios clínicos habitualmente utilizados para el diagnóstico de HF.

Evaluar el papel de los genes asociados con la MCD en la fisiopatología de la MCA y examinar los efectos de la ingesta de alcohol y el genotipo en el desarrollo de la MCA.

Métodos

Se realizó un estudio genético de 7 genes causales de HF o fenotipos similares (*LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *APOE*, *LDLRAP1* y *LIPA*) en 103 pacientes que ingresaron por SCA y presentaban niveles de LDL colesterol ≥ 160 mg/dl. A estos pacientes se les aplicaron además los scores clínicos de Simon Broome (SB) y Dutch Lipid Clinic (DLC) usados habitualmente para el diagnóstico clínico de HF. Se comparó la capacidad diagnóstica de HF de los scores clínicos y del estudio genético.

Para el estudio sobre MCA se estudiaron genéticamente 141 casos de MCA, 716 casos de MCD y 445 voluntarios sanos. Se comparó la prevalencia de mutaciones en nueve genes asociados con MCD hereditaria (*BAG3*, *LMNA*, *TCAP*, *TNNC1*, *TNNC2*, *DSP*, *SCN5A*, *TTN*, *MYH7*).

Resultados

La prevalencia de HF confirmada genéticamente fue de 8,7% (IC 95%: 4,3-16,4%). La prevalencia de HF probable o definitiva según los criterios DLC fue del 27,2% IC 95%:19,1-37%, n=28), mientras que los criterios SB identificaron al 27,2% (IC 95%: 19,1-37%, n=28) como HF posible o definitiva. Los criterios DLC y SB no identificaron a 4 (44%) y 3 (33%) de los pacientes con HF genéticamente

confirmada respectivamente. El estudio genético familiar permitió identificar 6 individuos más con HF.

En cuanto a los pacientes con MCA, tras la caracterización genética, las variantes en los genes que causan MCD se encontraron con mayor frecuencia en los pacientes con MCA que en los sujetos control (13,5% vs. 2,9%; $p=0,000012$), pero de forma similar a lo documentado en los pacientes con MCD (13,5% vs 19,4%; $p=0,12$) y con un predominio de variantes de truncamiento en el gen de la titina (TTNtv) (9,9%). La presencia de TTVtv no predijo fenotipo, resultado o recuperación funcional en el tratamiento de pacientes con MCA.

Conclusiones

La prevalencia de HF confirmada genéticamente en pacientes con SCA < 65 años y con LDL-C ≥ 160 mg/dl es aproximadamente del 9%. Los algoritmos clínicos usados habitualmente para el diagnóstico de HF no identifican con precisión a los pacientes afectados de HF en este contexto. Las pruebas genéticas deben recomendarse en pacientes jóvenes con SCA y niveles elevados de LDL-colesterol para permitir el diagnóstico precoz de los pacientes con hipercolesterolemia familiar y sus familiares en situación de riesgo.

En la patogénesis de la MCA existe un componente genético predisponente. Nuestros datos apoyan un modelo en el cual el alcohol y otros factores ambientales interactúan con el genotipo para determinar el fenotipo cardiaco. Por todo ello debe considerarse la realización de estudio familiar y pruebas genéticas en pacientes con miocardiopatía dilatada alcohólica.

Capítulo 1:
INTRODUCCIÓN

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1 MEDICINA GENÉTICA CARDIOVASCULAR: CONCEPTO, DESARROLLO Y APLICACIONES CLÍNICAS.

La medicina genética cardiovascular es un área emergente dedicada a identificar y comprender las afecciones cardíacas resultantes de los mecanismos genéticos y genómicos y al desarrollo y validación de los algoritmos y las pautas para su diagnóstico y tratamiento¹.

Se ha avanzado mucho en los últimos 30 años para comprender la base genética de las enfermedades cardiovasculares, impulsada en sus inicios por el gran entusiasmo que despertó el Proyecto Genoma Humano. Los avances tecnológicos surgidos en este tiempo han multiplicado de manera exponencial el conocimiento de la información genética. La técnica Sanger utilizada inicialmente ha dado paso a las nuevas técnicas de secuenciación masiva (también conocidas como “next generation sequencing”), que permiten analizar millones de fragmentos de ADN a la vez, multiplicando la velocidad de estudio y disminuyendo los costes.

Aunque la implementación de nuevos conocimientos genéticos en la práctica cotidiana de la medicina cardiovascular ha sido difícil, varias áreas se benefician ya de los resultados de este enorme esfuerzo investigador. Las consultas especializadas en genética cardiovascular brindan asesoramiento y pruebas genéticas y proporcionarán terapias específicas que hoy comienzan a ser ya una realidad.

Aunque prácticamente todas las enfermedades cardiovasculares tienen un componente genético, es en las enfermedades monogénicas o "mendelianas" en las que ha sido posible avanzar más hasta la fecha. Las enfermedades cardiovasculares

monogénicas incluyen las miocardiopatías, las canalopatías y otras enfermedades englobadas en este grupo y que en todos los casos son el resultado de una mutación que afecta a un único gen y generalmente exhibe patrones de herencia característicos (Tabla 1). Una mutación es un cambio relativamente raro en la secuencia de ADN, que ocurre en <1% de individuos, mientras que un polimorfismo es una variación más común que se observa en > 1% de la población².

Muchas de las enfermedades cardiovasculares monogénicas son causadas por mutaciones en el ADN exónico, es decir, cambios en la codificación de las proteínas. También se observan pequeñas inserciones, deleciones, o mutaciones en el sitio de empalme (mutaciones de splicing) que alteran la codificación de proteínas. Aunque la gran mayoría de las mutaciones conocidas causantes de enfermedades cardiovasculares son no sinónimas (de tipo missense), son posibles otras muchas variaciones genéticas, incluidos cambios genómicos estructurales, variaciones en los micro-ARN o sus sitios de unión, efectos epigenéticos, etc.

Algunas de las enfermedades cardiovasculares monogénicas más comunes y bien conocidas (Tabla 1) son las miocardiopatías, que incluyen la miocardiopatía dilatada (MCD), la miocardiopatía hipertrófica (MCH), la miocardiopatía restrictiva (MCR) y la miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho (MAVD). Otros trastornos monogénicos afectan a la generación o transmisión del impulso eléctrico y se conocen comúnmente como canalopatías (síndrome de QT largo, QT corto, Síndrome de Brugada entre otros). Algunos trastornos cardiovasculares monogénicos pueden afectar a tejidos más allá del corazón, como el síndrome de Marfan, una enfermedad multisistémica del tejido conectivo que afecta principalmente a la aorta. La hipercolesterolemia familiar (HF), causada por

mutaciones en el receptor de LDL o vías relacionadas, produce una enfermedad vascular aterosclerótica difusa que afecta particularmente a las arterias coronarias.

Tabla 1. Enfermedades cardiovasculares monogénicas (mendelianas) y poligénicas
MONOGÉNICAS
Hipercolesterolemia familiar
Síndrome de Marfan
Miocardiopatías
Miocardiopatía hipertrófica
Miocardiopatía dilatada
Miocardiopatía restrictiva
Miocardiopatía arritmogénica
Canalopatías
Síndrome de QT largo
Síndrome de QT corto
Síndrome de Brugada
Taquicardia ventricular catecolaminérgica polimórfica
POLIGÉNICAS
Enfermedad coronaria
Hipertensión

En contraste con los trastornos monogénicos, las enfermedades poligénicas (Tabla 1) son el resultado de la variación genética simultánea en varios genes con efectos pequeños. En este grupo la contribución de cualquier variante individual es mínima, pero la variación genética sumada a factores ambientales media el fenotipo de la enfermedad. Las patologías habitualmente englobadas en este grupo incluyen la enfermedad coronaria y la hipertensión entre otras. En la actualidad, la relevancia de la información genética para predecir el riesgo de individuos o

familiares en trastornos complejos como estos es aún motivo de estudio y queda fuera del presente trabajo.

El estudio a escala genómica de las enfermedades cardiovasculares permite entenderlas mejor para optimizar y dirigir terapias personalizadas. La explosión del conocimiento genético dentro de las enfermedades monogénicas y la consiguiente proliferación de pruebas genéticas permite que un número mucho mayor de personas se beneficien directamente de este progreso. Existe una razón fundamental para este enfoque: las enfermedades cardiovasculares monogénicas comúnmente se presentan con eventos potencialmente mortales (muerte súbita cardíaca, insuficiencia cardíaca, accidente cerebrovascular, etc.). Dado que se trata de enfermedades hereditarias, existe un elevado riesgo para los familiares que, pese a permanecer asintomáticos, podrían ser portadores de variantes genéticas de riesgo. La identificación, evaluación y tratamiento de individuos asintomáticos pero con riesgo genético proporciona la posibilidad de prevenir o mejorar la morbilidad y mortalidad cardiovascular.

1.2 HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR: CONCEPTO, EPIDEMIOLOGÍA, ETIOLOGÍA.

La hipercolesterolemia familiar (HF) es una enfermedad autosómica dominante causada por un trastorno del metabolismo de los lípidos de origen genético, que provoca una elevada concentración plasmática de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL-C)³.

La exposición prolongada a altos niveles de LDL-C acelera la enfermedad cardiovascular aterosclerótica, y, especialmente, la enfermedad coronaria. Si no se trata, los hombres y mujeres con HF heterocigota, expuestos a niveles muy

elevados de LDL-C desde el nacimiento, típicamente desarrollan enfermedad coronaria antes de los 55 y 60 años, respectivamente⁴. Sin embargo, un diagnóstico temprano y un tratamiento hipolipemiante adecuado instaurado de forma precoz disminuyen el riesgo que conlleva la enfermedad.

En el 79% de casos, la HF es causada por mutaciones en el gen del receptor de LDL (*LDLR*), lo que ocasiona un defecto en la síntesis, ensamblaje, transporte o reciclaje del receptor o una endocitosis alterada de LDL. La apolipoproteína B (APOB) ayuda al LDLR a unirse al LDL, mientras que la proproteína convertasa subtilisina kexina tipo 9 (PCSK9) degrada el LDLR. Las mutaciones en *LDLR* y *APOB* generalmente se producen por pérdida de función, mientras que las mutaciones en *PCSK9* generan una ganancia de función. Se han identificado más de 100 mutaciones diferentes productoras de enfermedad en *LDLR*, que causan una función reducida o una completa pérdida de función del receptor. La pérdida completa de la función se asocia con una enfermedad más severa. Mutaciones en los genes *APOB* y *PCSK9* representan el 5% y algo menos del 1% de los casos de HF, respectivamente. En el primer caso estas mutaciones reducen la unión de LDL al receptor, mientras que las mutaciones en *PCSK9* actúan aumentando el catabolismo de LDLR. El restante 15% de los casos de HF son de origen poligénico o bien son causados por otras mutaciones monogénicas cuya prevalencia aún no se conoce. Los genes más recientes relacionados con HF incluyen *APOE*, *SREBP2* y *STAP1*. Una forma recesiva muy rara de HF es causada por una mutación en el gen *LDLRAP1*⁵.

La mayoría de individuos con HF son heterocigotos, y, de acuerdo con estudios recientes, la prevalencia de la hipercolesterolemia familiar heterocigota es mayor

de lo que se pensaba: se cree que afecta a entre 1/200 y 1/300 individuos de la población general^{6,7}.

Por el contrario, la hipercolesterolemia familiar homocigota es una enfermedad rara y potencialmente mortal cuya prevalencia se estima en 1/160000-1/300000 sujetos⁸. Los pacientes homocigotos pueden tener la misma mutación en ambos alelos del mismo gen o, más frecuentemente, son heterocigotos compuestos, con mutaciones diferentes en cada alelo del mismo gen o pueden ser dobles heterocigotos, con mutaciones en 2 genes diferentes afectando a la función del LDLR. El cuadro clínico se caracteriza por la presencia extensa de xantomas, enfermedad cardiovascular prematura y progresiva y un colesterol total muy elevado (>13mmol/L, 500mg/dl). La mayoría de los pacientes desarrollan enfermedad coronaria y estenosis aórtica antes de los 20 años y mueren antes de los 30 si no se tratan⁸. La identificación temprana de estos niños y su pronta derivación a una clínica especializada es crucial.

1.2.1 Diagnóstico de la hipercolesterolemia familiar

La identificación de los pacientes con HF se realiza mediante el diagnóstico clínico, el análisis de los antecedentes personales y familiares, y mediante pruebas genéticas. Las principales características del trastorno, que son la concentración plasmática elevada de LDL-C, signos físicos típicos, como los xantomas tendinosos o el arco corneal, y los antecedentes familiares de enfermedad coronaria prematura, se han utilizado para desarrollar las herramientas (scores) más ampliamente utilizadas en el diagnóstico. Estos son los criterios de la Red Holandesa de Lípidos (DLC)⁹ (Tabla 2), los criterios Make Early Diagnosis to Prevent Early Death (MEDPED)¹⁰ (Tabla 3) y los del Registro Simon Broome (SB)¹¹

(Tabla 4). Los criterios de MEDPED dependen únicamente de los niveles de colesterol total específico para la edad y la historia familiar, mientras que los de DLC y SB incluyen otros criterios similares; sin embargo, actualmente no existen herramientas internacionales estandarizadas.

Tabla 2. Criterios de la Red Holandesa de Lípidos (DLC)⁹	
Grupo 1: Historia familiar	Puntos
Familiar de primer grado con enfermedad coronaria precoz (<55H/<60M)	1
Familiar de primer grado con LDL>percentil 95 por edad y género	1
Familiar de primer grado con xantoma tendinoso y/o arco corneal o	2
Niños<18 años con LDL-C>percentil 95 por edad y género	2
Grupo 2: Historia clínica	
Pacientes con enfermedad coronaria precoz (<55H/<60M)	2
Pacientes con enfermedad cerebral o vascular periférica precoz (<55H/<60M)	1
Grupo 3: Exploración física	
Xantoma tendinoso	6
Arco corneal en personas<45 años	4
Grupo 4: Resultados de laboratorio (LDL-C)	
Colesterol LDL>325 mg/dL (>8.5 mmol/L)	8
Colesterol LDL>251–325 mg/dL (6.5–8.4 mmol/L)	5
Colesterol LDL>191–250 mg/dL (5.0–6.4 mmol/L)	3
Colesterol LDL>155–190 mg/dL (4.0–4.9 mmol/L)	1
Grupo 5: Estudio genético	
Detección de mutación causal en los genes <i>LDLR</i> , <i>APOB</i> o <i>PCSK9</i>	8
DIAGNÓSTICO	
>8 puntos: Definitivo	3-5 puntos: Posible
6-8 puntos: Probable	0-2 puntos: Improbable

Tabla 3. Criterios Make Early Diagnosis to Prevent Early Death (MEDPED)¹⁰

El diagnóstico de HF es probable si los niveles de **Colesterol total o **LDL-C** exceden estos puntos de corte:**

	Paciente con familiar de 1º grado con HF	Paciente con familiar de 2º grado con HF	Paciente con familiar de 3er grado con HF	Sin familiares con HF
Valores de Colesterol total/LDL-C (mg/dl)				
Edad<20 años	220/155	230/165	240/170	270/200
Edad 20-29	240/170	250/180	260/185	290/220
Edad 30-39	270/190	280/200	290/210	340/240
Edad>40 años	290/205	300/215	310/225	360/260
Valores de Colesterol total/LDL-C (mmol/L)				
Edad<20 años	5.7/4.0	5.9/4.3	6.2/4.4	7.0/5.2
Edad 20-29	6.2/4.4	6.5/4.7	6.7/4.8	7.5/5.7
Edad 30-39	7.0/4.9	7.2/5.2	7.5/5.4	8.8/6.2
Edad>40 años	7.5/5.3	7.8/5.6	8.0/5.8	9.3/6.7

*Con un 98% de especificidad. Basado en población de EEUU.

El diagnóstico clínico se basa en la historia familiar de hipercolesterolemia o enfermedad cardiovascular prematura, los antecedentes clínicos del paciente de enfermedad cardiovascular y la presencia de signos clínicos. Para mejorar la valoración del riesgo se recomienda el uso de técnicas de imagen para detectar aterosclerosis asintomática⁴.

Tabla 4. Criterios del registro de Simon Broome (SB)¹¹

Hipercolesterolemia familiar definitiva
<p>Cifras de colesterol elevadas:</p> <p>Adultos: Niveles de colesterol total >290 mg/dL (7.5 mmol/L) o LDL-C >190 mg/dL (4.9 mmol/L)</p> <p>Niños <16 años: Niveles de colesterol total >260 mg/dL (6.7 mmol/L) o LDL-C >155 mg/dL (4.0 mmol/L)</p> <p>Además de al menos uno de los dos siguientes:</p> <p>Signos físicos: xantomas tendinosos, o xantomas tendinosos en familiar de 1^{er} o 2^o grado.</p> <p>Mutación en los genes <i>LDLR</i>, <i>APOB</i> o <i>PCSK9</i></p>
Hipercolesterolemia familiar posible
<p>Cifras de colesterol elevadas:</p> <p>Adultos: Niveles de colesterol total >290 mg/dL (7.5 mmol/L) o LDL-C >190 mg/dL (4.9 mmol/L)</p> <p>Niños <16 años: Niveles de colesterol total >260 mg/dL (6.7 mmol/L) o LDL-C >155 mg/dL (4.0 mmol/L)</p> <p>Además de al menos uno de los dos siguientes:</p> <p>Historia familiar de infarto de miocardio:</p> <p>Con 60 años o menor en familiar de primer grado</p> <p>Con 50 años o menor en familiares de segundo grado</p> <p>Historia familiar de cifras de colesterol total elevado</p> <p>> 290 mg/dL (7.5 mmol/L) en familiar de primer o segundo grado adulto.</p> <p>>280 mg/dL (6.7 mmol/L) en hijo, hermano o hermana menor de 16 años.</p>

El estudio genético puede confirmar un diagnóstico clínico o ayudar a identificar a los casos índices, cuyos familiares requerirán pruebas de detección; dado que la HF es una enfermedad heredada de forma autosómica dominante, el cribado en cascada es un medio rentable para identificar a las personas en riesgo mediante un proceso de rastreo familiar sistemático. Están disponibles varios tipos de pruebas

genéticas, con diferentes enfoques. Las pruebas más rápidas buscan identificar una mutación específica en los genes *LDLR*, *APOB* o *PCSK9* que ya ha sido previamente informada en otro miembro de la familia¹². En el otro extremo existen pruebas que buscan todas las mutaciones conocidas y posibles en genes relacionados con la enfermedad mediante amplios paneles de genes¹³.

Aunque las pruebas de ADN actuales han demostrado altos niveles de especificidad y sensibilidad, especialmente cuando se combinan con los criterios clínicos¹⁴, el no encontrar una mutación no necesariamente excluye un diagnóstico de HF. Por lo tanto, es necesario mejorar la detección precoz de la HF, que es esencial para la reducción efectiva de la morbilidad y la mortalidad de los pacientes con enfermedad cardiovascular. Esto es particularmente importante dada la magnitud del problema: se ha estimado que hay entre 14 y 34 millones de individuos con HF en todo el mundo, pero que menos del 1% de los pacientes potenciales han sido identificados en muchos países¹⁵.

En los niños el diagnóstico se basa igualmente en criterios fenotípicos, incluyendo cifras de LDL-C elevadas junto con una historia familiar de LDL-C elevado, enfermedad coronaria prematura y/o estudio genético positivo¹⁶. Cifras de colesterol $\geq 5\text{mmol/L}$ (190mg/dL) se deben con alta probabilidad a HF. En niños con antecedentes familiares de colesterol elevado o enfermedad coronaria prematura el punto de corte puede ser $\geq 4\text{mmol/L}$ (160 mg/dl). Si uno de los progenitores tiene un defecto genético conocido el diagnóstico para el niño se sitúa en $\geq 3.5\text{mmol/L}$ (130 mg/dl)¹⁶.

1.2.2 Tratamiento de la hipercolesterolemia familiar

El tratamiento hipolipemiante debe iniciarse lo antes posible una vez realizado el diagnóstico⁴. El tratamiento de elección son las estatinas que actúan disminuyendo la velocidad de síntesis del colesterol mediante la inhibición de la enzima hidroximetilglutaril-CoA (HMG-CoA) reductasa, si bien los pacientes con HF pueden responder sólo de forma parcial a las mismas debido a las mutaciones en uno o en ambos alelos de los genes implicados. Dado que la eficacia de las estatinas depende en parte del aumento de la actividad del receptor de LDL, pacientes con HF con receptores de LDL sustancialmente reducidos (heterocigotos) o ausentes (homocigotos) pueden no experimentar una reducción adecuada de los niveles de LDL-C¹⁷. Los objetivos del LDL son <2.6 mmol/L (100mg/dl) o <1.8 mmol/L (<70 mg/dl) si existe enfermedad cardiovascular⁴. Por ello en muchos casos será preciso realizar una terapia combinada con otros fármacos.

Habitualmente el primer fármaco que se asocia a las estatinas es el ezetimibe, que actúa impidiendo la absorción intestinal de colesterol a nivel del tubo digestivo mediante la inhibición de la proteína transportadora NPC1L1 que se encuentra en las microvellosidades intestinales¹⁸. Cuando se bloquea la síntesis de colesterol mediante estatinas, el organismo tiende a compensar este déficit de colesterol incrementando su absorción, por lo que la asociación de ezetimibe a un tratamiento previo con estatinas evita esta compensación y produce una reducción adicional y sinérgica de los niveles de colesterol.

Los anticuerpos PCSK9 se han registrado recientemente para su uso en pacientes con HF. Estos fármacos reducen de forma muy eficiente el LDL-C hasta en un 60% asociados a las estatinas^{19, 20}. Los inhibidores de PCSK9 se deben considerar en

pacientes con HF de alto riesgo debido a la presencia de enfermedad cardiovascular, una historia familiar de enfermedad coronaria a edad muy temprana o un nivel de LDL-C lejos del objetivo, a pesar de máximas dosis terapéuticas⁴. Los inhibidores de PCSK9 también deben considerarse en pacientes con HF heterocigota que no pueden tolerar las estatinas⁴. En la HF homocigota uno de estos fármacos (evolucumab) ha sido aprobado para su uso en Europa en mayores de 12 años.

Otros fármacos hipolipemiantes se han usado también en combinación con estatinas, como los secuestradores de ácidos biliares, niacina, fibratos y probucol, aunque su uso está limitado por la tolerabilidad y la disponibilidad de los mismos.

Para el tratamiento de los niños, aunque faltan ensayos controlados con placebo, existen estudios observacionales que sugieren que el tratamiento temprano puede reducir la acumulación de LDL-C, mejorar la función endotelial, y atenuar el desarrollo de la aterosclerosis y la enfermedad coronaria¹⁶. El tratamiento de los niños con HF incluye un estilo de vida saludable y el uso de estatinas a partir de los 8-10 años^{4, 21}. El tratamiento con estatinas debe iniciarse con dosis bajas y la dosis debe aumentarse para alcanzar los objetivos. El objetivo de LDL-C en niños mayores de 10 años es un LDL-C <3.5 mmol/l (135 mg/dl) y en edades inferiores una reducción de al menos el 50% de las cifras de LDL-C⁴.

En lo que respecta a la HF homocigota, al tratamiento farmacológico se le añade la posibilidad de la aféresis. La eliminación extracorpórea de LDL-C, aunque es una estrategia terapéutica cara y más o menos compleja, es coste efectiva y debe considerarse como un tratamiento eficaz para la HF homocigota, debiendo remitirse al paciente a un centro especializado²². Los métodos iniciales no

selectivos de recambio plasmático (plasmaféresis) se han sustituido por varios métodos para la eliminación selectiva de lipoproteínas aterogénicas. Un solo tratamiento puede disminuir los niveles plasmáticos de LDL-C en un 55-70%, pudiéndose alcanzar niveles cercanos a los normales cuando la aféresis se realiza una vez a la semana⁸.

A pesar de la falta de estudios aleatorizados existe evidencia de que la aféresis de lipoproteínas a largo plazo puede contribuir a la regresión y/o estabilización de la placa y mejorar el pronóstico. La acumulación de datos sugiere que cuanto antes se inicia la aféresis, mejor es el pronóstico. En la práctica la edad de inicio del tratamiento y su frecuencia suponen un compromiso entre el acceso a los centros, la gravedad de la enfermedad y el costo^{8, 17}.

El trasplante hepático corrige el defecto molecular en el órgano más activo en el metabolismo del colesterol, dando lugar a una mejoría en los niveles de LDL-C, si bien es un procedimiento con unos riesgos elevados y requiere el uso de medicación inmunosupresora de por vida, por lo que hoy en día está prácticamente en desuso⁸.

En los últimos años han surgido nuevas moléculas cuyo mecanismo de acción se basa en alterar la producción y secreción de lipoproteínas con apoB, en lugar de aumentar su eliminación de la circulación, capacidad gravemente alterada en pacientes con HF homocigota. Estos fármacos son lomitapida, aprobado para su uso tanto en Estados Unidos como en Europa como terapia coadyuvante en pacientes mayores de 18 años con o sin aféresis, y mipomersen, aprobado en Estados Unidos, pero no en Europa, también como terapia complementaria en pacientes mayores de 12 años sin aféresis⁸.

1.3 MIOCARDIOPATÍA DILATADA Y MIOCARDIOPATÍA DILATADA ALCOHÓLICA.

La miocardiopatía dilatada (MCD) se encuadra dentro de las miocardiopatías, enfermedades en las que el miocardio es estructural y/o funcionalmente anormal. El concepto de miocardiopatía ha ido variando a lo largo de los años y las diferentes clasificaciones. En 1980²³ la Organización Mundial de la Salud (OMS) define las miocardiopatías como “enfermedades del músculo cardíaco de causa desconocida”, para diferenciarlas de la disfunción secundaria a causas conocidas como cardiopatía isquémica, hipertensión arterial o valvulopatías. La siguiente clasificación de la OMS, en 1995²⁴ clasificaba las miocardiopatías en 2 grandes grupos: por un lado, enfermedades del miocardio asociadas a disfunción cardíaca (miocardiopatía dilatada, hipertrófica, restrictiva, arritmogénica y no clasificada) y por otro, enfermedades del músculo cardíaco asociadas a una enfermedad específica, o que forman parte de enfermedades sistémicas generalizadas (isquémica, valvular, hipertensiva, tóxica, metabólica, inflamatoria, trastornos neuromusculares, etc).

Los avances producidos en el campo de la genética y la identificación de nuevas enfermedades cardíacas condujeron a que tanto la Asociación Americana del Corazón (American Heart Association, AHA) como la Sociedad Europea de Cardiología (European Society of Cardiology, ESC) propusieran una nueva clasificación para las miocardiopatías.

La clasificación propuesta por la AHA²⁵ define las miocardiopatías como un grupo heterogéneo de enfermedades del miocardio con disfunción mecánica y/o eléctrica que habitualmente (pero no siempre) cursan con hipertrofia o dilatación

ventricular inapropiada y que se deben a una multitud de causas que son habitualmente genéticas. En esta clasificación las miocardiopatías se dividen en 2 grandes grupos: Primarias, si la afectación está confinada de forma predominante al corazón, y secundarias, que se producirían en el seno de una afectación multiorgánica (pudiendo ser de causa infiltrativa, por depósito, tóxica, etc). Dentro de las primarias se distinguen tres etiologías: genética, adquirida o mixta. Las primarias de causa genética incluyen la miocardiopatía hipertrófica, arritmogénica, no compactada, mitocondriales así como las enfermedades de los canales iónicos y alteraciones de la conducción (estas últimas no incluidas en otras definiciones). La miocardiopatía dilatada, junto con la restrictiva quedan agrupadas en el grupo de primarias con etiología mixta. Entre las adquiridas se incluyen la miocarditis, la miocardiopatía por estrés, periparto y la taquimiocardiopatía (Figura 1A).

En 2008²⁶ la Sociedad Europea de Cardiología propuso una nueva clasificación que define las miocardiopatías como una afectación primaria del músculo cardíaco que es estructural o funcionalmente anormal en ausencia de enfermedad coronaria, valvular o cardiopatía congénita suficientes para causar la afectación miocárdica. Esta clasificación agrupa las miocardiopatías en fenotipos morfológicos y funcionales (hipertrófica, dilatada, arritmogénica, restrictiva e inclasificables), subclasificándolos según su naturaleza familiar o no familiar (Figura 1B, Tabla 5).

Figura 1A. Clasificación de la miocardiopatías según la American Heart Association²⁵

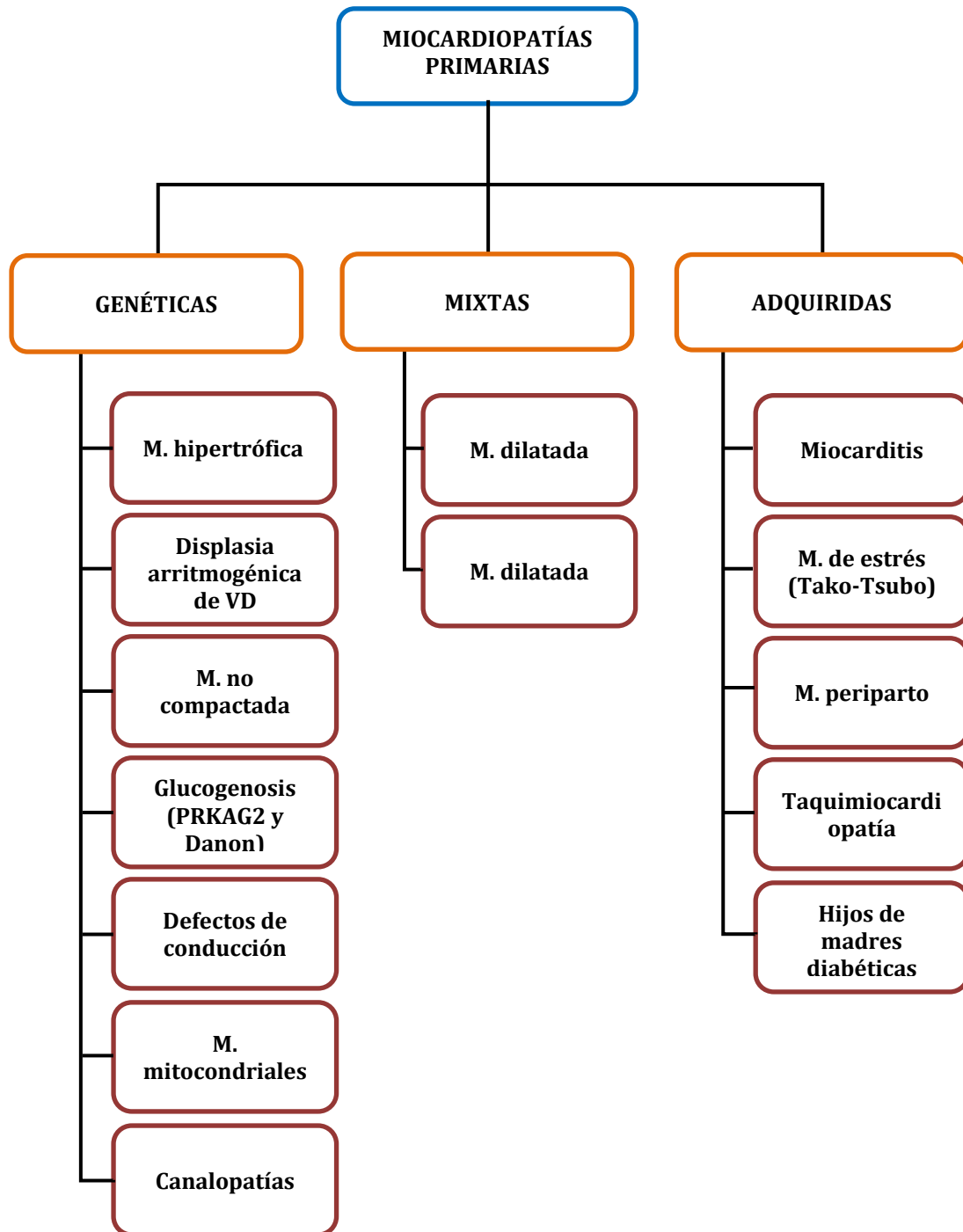
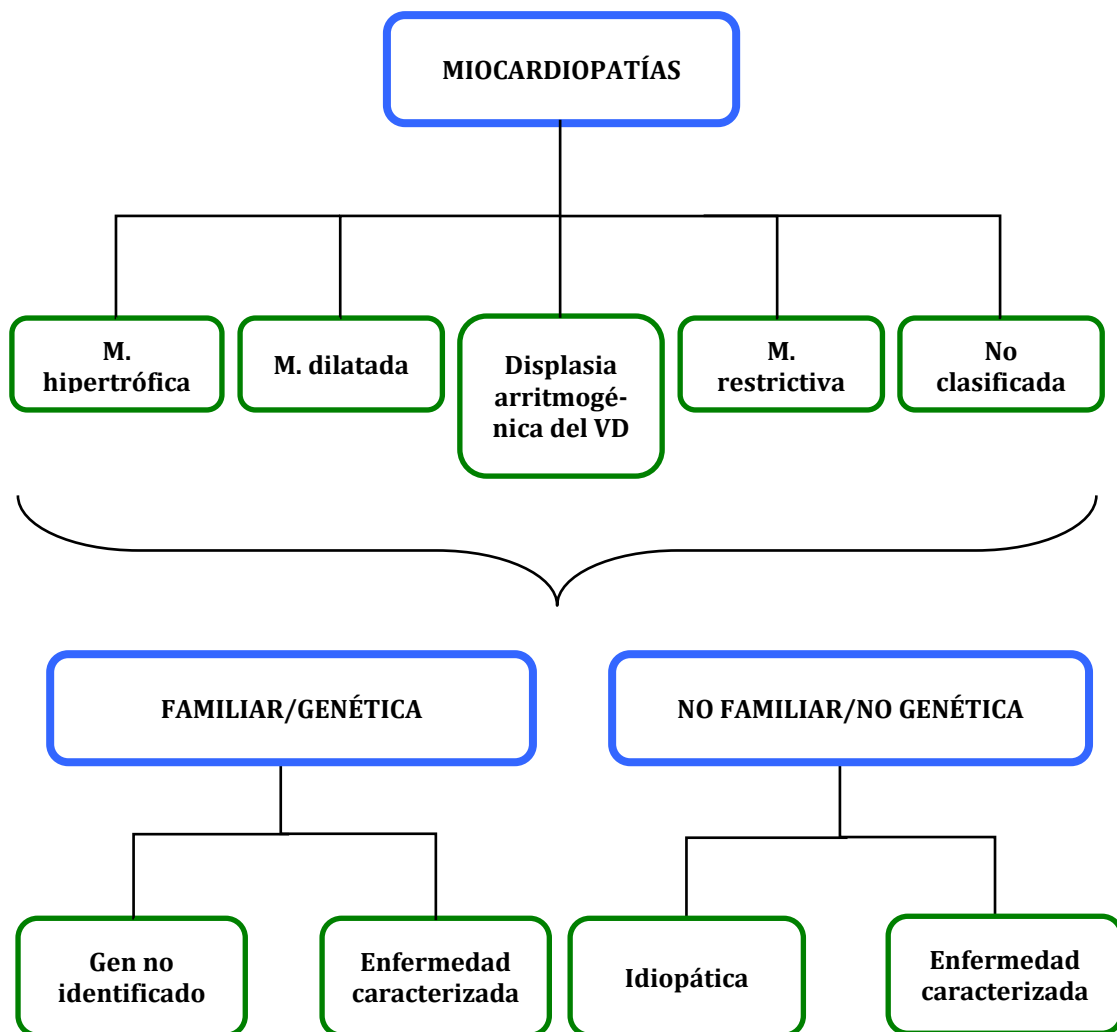


Figura 1B. Clasificación de las miocardiopatías según la Sociedad Europea de Cardiología²⁶



En 2013 la Federación Mundial del Corazón propuso la hasta ahora última clasificación, denominada clasificación MOGE(S) para las miocardiopatías²⁷. Según esta clasificación cada entidad queda descrita por cinco características: M o estado morfofuncional expresa el fenotipo. O se refiere al órgano afectado. G es el tipo de herencia genética, E se refiere a la etiología o causa específica y S la clase funcional (siendo este último un parámetro opcional). Aunque esta clasificación presenta algunas ventajas se necesitan más estudios y conseguir que sea más práctica.

Tabla 5. Clasificación de las miocardiopatías según la Sociedad Europea de Cardiología²⁶

	M. hipertrófica	M. dilatada	DAVD	M. restrictiva	Inclasificables
Familiar	Familiar, gen desconocido. Por mutaciones en genes sarcoméricos Enfermedades de depósito de glucógeno (PRKAG2, Danon, Pompe). Enfermedades lisosomales (Fabry, Hurler). Enfermedades de metabolismo ácidos grasos. Deficiencia de Carnitina Déficit de Fosforilasa B kinasa. Enfermedades Mitocondriales. Síndromes (Noonan, LEOPARD, Ataxia Friedrich, Swyer) Otras: amiloidosis familiar	Familiar, gen desconocido. Por mutaciones en genes sarcoméricos. Por mutaciones en proteínas de la banda Z. Mutaciones en proteínas del citoesqueleto. Mutaciones en proteínas de la membrana nuclear. Mutaciones en proteínas desmosómicas. Enfermedades Mitocondriales.	Familiar, gen desconocido. Mutaciones en proteínas desmosómicas. Mutaciones en el receptor de la Ryanodina. Mutaciones en TGFβ3.	Familiar, gen desconocido. Por mutaciones en genes sarcoméricos Amiloidosis familiar (Transtiretina, Apolipoprotein a). Mutaciones en Desmina. Hemocromatosis Enfermedad de Fabry. Enfermedades de depósito de glucógeno. Pseudoxantoma elástico.	No compactada Síndrome de Barth ZASP Laminopatía A/C α-Distroverina
No Familiar	Obesidad Hijos de madres diabéticas. Amiloidosis (AL/senil) Corazón de atleta	Miocarditis (infecciosa/tóxica/autoinmune) Enfermedad de Kawasaki. Drogas Periparto Endocrina Nutricional Taquimiocardiopatía Por Alcohol	Inflamación (¿?)	Amiloidosis (AL/senil/AA) Esclerodermia Fibrosis endomiocárdica. Post-radiación. Drogas Por tumores carcinoides.	Discinesia apical transitoria (Tako Tsubo)

1.3.2 Miocardiopatía dilatada: concepto, diagnóstico y etiología

La miocardiopatía dilatada (MCD) es una enfermedad progresiva del músculo cardíaco, caracterizada por dilatación y disfunción sistólica del ventrículo izquierdo en ausencia de condiciones de carga anormales (hipertensión, enfermedad valvular) o enfermedad coronaria suficiente para causar disfunción

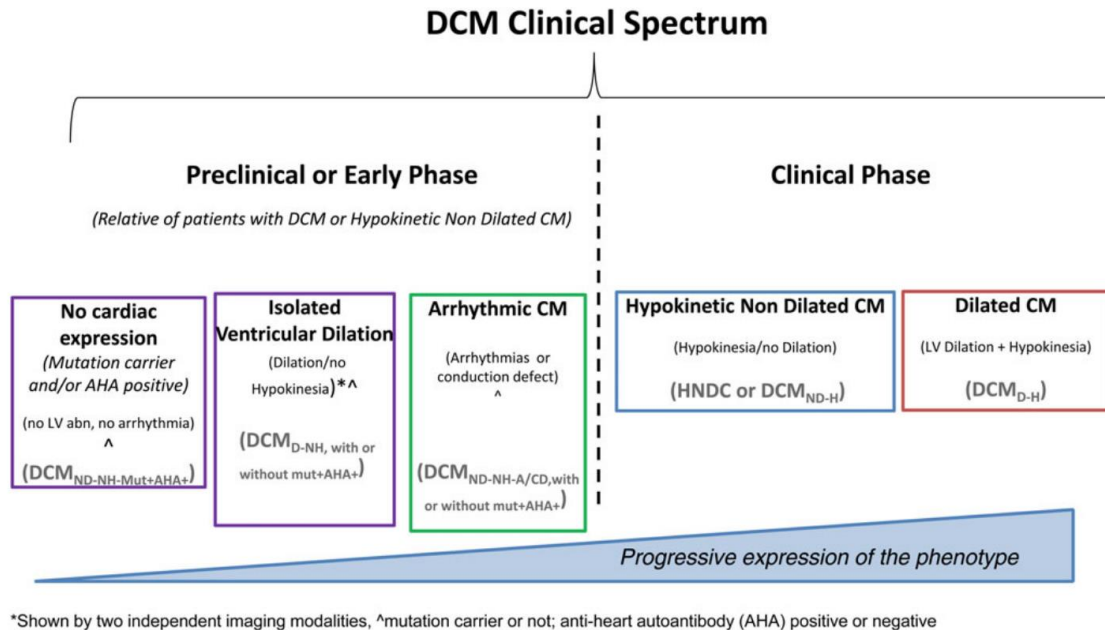
sistólica global²⁶. La dilatación y disfunción del ventrículo derecho puede estar o no presente, pero no es necesaria para establecer el diagnóstico. Los pacientes afectados pueden desarrollar insuficiencia cardiaca, arritmias y muerte súbita. La MCD se estima que afecta a una de cada 250 personas²⁸ y es la causa más frecuente de insuficiencia cardiaca en pacientes jóvenes²⁹, el tipo más común de miocardiopatía³⁰ y la primera causa de trasplante cardiaco a nivel mundial³¹.

En este sentido la MCD no se trataría de una entidad única, sino de una vía final común en respuesta a una serie de insultos genéticos y ambientales sobre el miocardio, que originarían este fenotipo^{30, 32}. Tras la lesión inicial (genética o adquirida), se produciría una disminución de la capacidad contráctil del corazón con la consiguiente disminución del volumen/latido. Esto originaría, por un lado una relativa peor perfusión de los diferentes tejidos, que favorecerá un deterioro orgánico y, por otro, la incapacidad de extracción de todo el volumen sanguíneo durante la sístole. El volumen residual producirá un progresivo aumento de los volúmenes y presiones intracavitarios y de forma secundaria, dilatación de las cámaras cardiacas. Como resultado de todo ello el corazón será cada vez mayor y más esférico, lo que va en detrimento de su capacidad contráctil. A la vez, el aumento de presiones intracavitarias provoca disminución del retorno venoso, dando lugar a los síntomas congestivos propios de la insuficiencia cardiaca.

El diagnóstico de MCD se establece cuando existe dilatación y disfunción del ventrículo izquierdo o ambos ventrículos que no se explican por condiciones de carga anormales o enfermedad coronaria. La disfunción sistólica se define por una fracción de eyección del VI anormal, medida usando cualquier modalidad y evidenciada por 2 técnicas de imagen diferentes, o en 2 ocasiones distintas por la

misma técnica, preferiblemente ecocardiografía o resonancia magnética cardíaca³³. La dilatación del ventrículo izquierdo se define por los volúmenes telediastólicos del VI o los diámetros >2 desviaciones estándar de acuerdo a los nomogramas (Z scores >2 desviaciones estándar) corregidos por la superficie corporal y la edad o superficie corporal y género.

En 2016 la Sociedad Europea de Cardiología propuso una revisión de la definición de miocardiopatía dilatada³⁴, para tratar de englobar aquellos estadios que no cumplen la definición pero sin embargo tienen alteraciones en las pruebas diagnósticas o bien son portadores asintomáticos de mutaciones causales, como ocurre habitualmente al estudiar familiares de pacientes con miocardiopatía dilatada de origen genético (figura 2).

Figura 2. Espectro clínico de la miocardiopatía dilatada. Tomado de Pinto et al.³⁴

LV abn: anormalidad del Ventrículo izquierdo. ND: no dilatación. D: dilatación. NH: no hipocinético. H: hipocinético. Mut+: Portador de la mutación. AHA+: auto anticuerpo cardiaco positivo. A/CD: arritmia/efecto de conducción.

El diagnóstico de miocardiopatía dilatada exige descartar las principales causas que pueden conducir a este fenotipo, tratando de buscar la etiología del mismo. Esto puede requerir múltiples estudios, en función de la historia clínica de cada paciente y los hallazgos que se vayan obteniendo (ecocardiograma, resonancia magnética, coronariografía, biopsia, estudio genético entre otras)^{32, 34}.

Las causas de MCD se pueden clasificar en genéticas y no genéticas (Tabla 6), aunque en determinadas circunstancias la predisposición genética interactúa con factores extrínsecos o ambientales³⁴. Hay amplios datos sobre la agregación familiar en la MCD, suponiendo entre el 30-50% de todos los casos^{28, 35-37}.

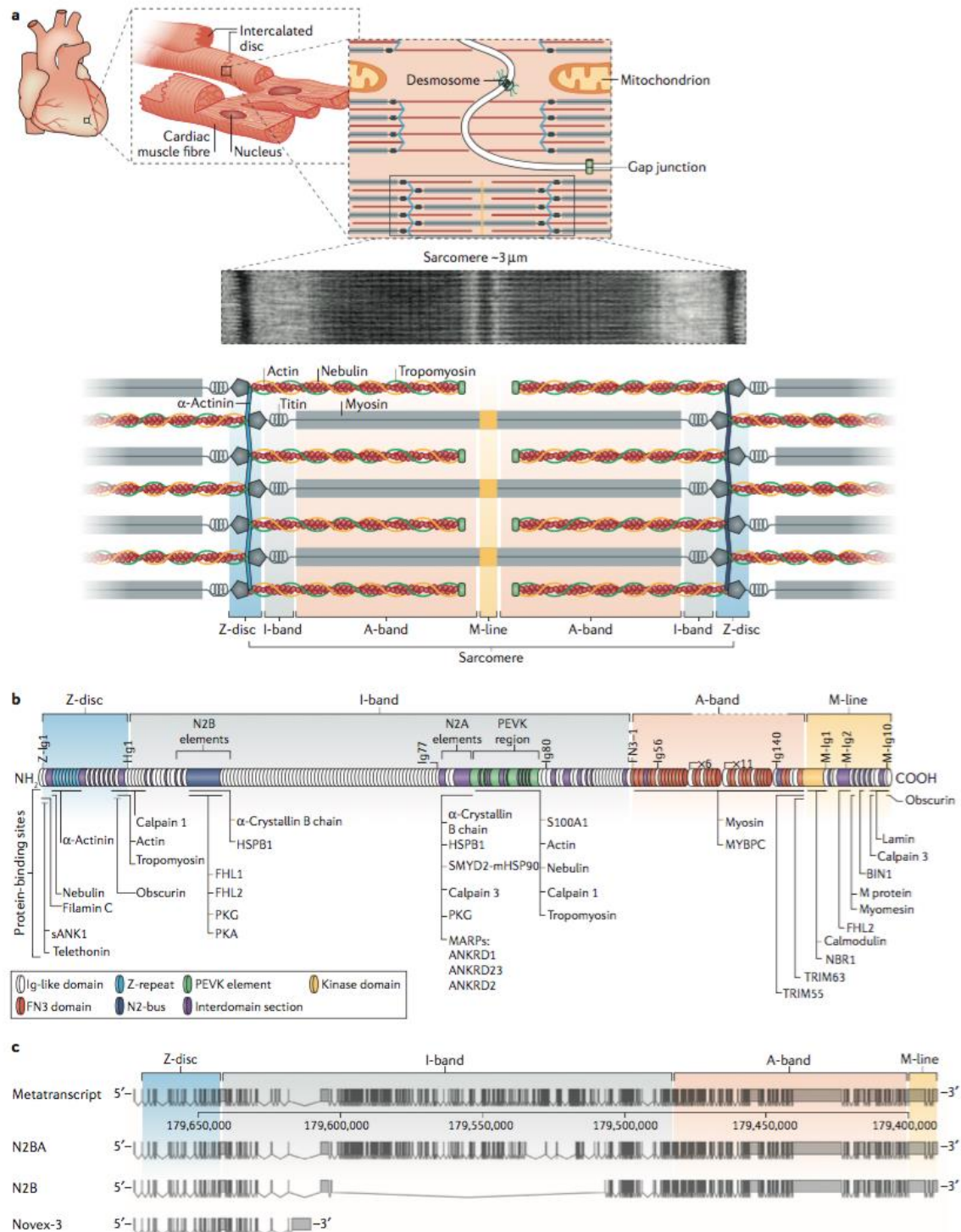
Tabla 6. Causas de miocardiopatía dilatada. Adaptado de Pinto et al. ³⁴	
Grupo	Subtipo o agente causal
Genéticas	
Principales genes	<i>TTN</i> (20-25%; AD)
	<i>LMNA</i> (6%, AD)
	<i>MYH7</i> (4%; AD)
	<i>TNNT2</i> (2%; AD)
	<i>MYBPC3</i> (2%; AD)
	<i>RBM20</i> (2%; AD)
	<i>MYPN</i> (2%; AD)
	<i>SCN5A</i> (2%; AD)
	<i>BAG3</i> (2%; AD)
	<i>PLN</i> (1%; AD)
T. neuromusculares	D. M Duchenne (Ligado a X))
	D. M. Becker (Ligado a X))
	D. Miotónica Steinert (AD)
E. Síndrómicas	E. Mitocondriales (H. Mitocondrial)
	Tafazina (Ligado a X)
Drogas	
	Antineoplásicos: Antraciclinas, Trastuzumab, Taxol, alquilantes
	Psiquiátricas: Clozapina, Olanzapina, Risperidona, Litio
	Otras: Cloroquina, antirretrovirales
Tóxicos	
	Alcohol
	Cocaína, anfetaminas
Déficit nutricionales	
	Selenio, Tiamina, Zinc Carnitina
T. Electrolíticos	Hipocalcemia, hipofosfatemia
T. Endocrinológicos	Hipo-hipertiroidismo. Cushing, Addison, feocromocitoma, Diabetes Mellitus
Infecciosas	Virales (incluido VIH)
	Bacterias (incluye Lyme)
	Micobacterias, hongos
	Parásitos (E. Chagas)
E. Autoinmunes	
Organoespecíficas	Miocarditis células gigantes
	MCD inflamatoria
No organoespecíficas	Polimiositis, sarcoidosis, dermatomiositis, Churg-Strauss, Wegener, Lupus,
Taquimiocardiopatía	
Periparto	

Las variantes de truncamiento en el gen que codifica la titina (*TTN*tv), una proteína sarcomérica clave, representa la causa genética predominante, observada entre el

10% y el 20% de los casos ³⁸, si bien, se reconoce que hasta el 1% de la población general tiene una variante de truncamiento en este gen, lo que representa un desafío significativo para la interpretación³⁹. Los factores genéticos y/o ambientales probablemente explican la variabilidad en la penetrancia y expresividad. En línea con esto, evidencias recientes han demostrado que más del 10% de las pacientes con miocardiopatía periparto son portadoras de TTNtv, lo que sugiere que en algunas pacientes el fenotipo de MCD resulta de la combinación entre el embarazo y un trasfondo genético predisponente⁴⁰ (Figura 3).

El patrón de transmisión más común es autosómico dominante, pero también se encuentran patrones recesivos, ligados a X o con herencia mitocondrial. La MCD de origen genético puede presentarse como afectación cardíaca aislada o bien asociarse a otros síndromes, como la Ataxia de Friedrich, hemocromatosis u otras enfermedades neuromusculares.

Figura 3. Representación del sarcómero y estructura del gen *TTN*. Tomado de Ware y Cook⁴¹



En las formas no genéticas de MCD el proceso subyacente es el denominado remodelado, definido como alteración de la estructura (forma, masa y volumen) y función ventriculares en respuesta al daño o sobrecarga hemodinámica asociados a activación neurohormonal. El remodelado paradójico o maladaptativo se inicia como mecanismo de compensación, que a largo plazo resulta perjudicial. Las vías que se ponen en marcha para llevarlo a cabo no se conocen en su totalidad, pero está demostrada la utilidad de algunos fármacos, tales como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y los betabloqueantes que mejoran la supervivencia a largo plazo, actuando sobre estas vías y frenando el remodelado.

Dentro de las causas no genéticas, varios compuestos químicos pueden inducir MCD, los más comunes son el consumo excesivo de alcohol y los agentes quimioterápicos, en los que parece haber una susceptibilidad individual que se relaciona con mecanismos genéticos y no genéticos.

1.3.3 Miocardiopatía dilatada alcohólica: concepto, fisiopatología y epidemiología

De forma similar a otras causas de MCD, la miocardiopatía dilatada alcohólica (MCA) se caracteriza por dilatación y disfunción del ventrículo izquierdo⁴². Su diagnóstico es igualmente de exclusión, en un paciente con MCD en el que se han descartado otras causas y que presenta una historia de abuso prolongado de alcohol, clásicamente >80 gramos diarios durante más de 5 años⁴³.

Los efectos depresores del alcohol en el organismo se conocen ampliamente desde hace siglos⁴⁴, así como su toxicidad sobre el miocardio, datándose la descripción más antigua de MCA en Alemania en 1877⁴⁵. Sin embargo, los mecanismos de lesión miocárdica por los que actúa el alcohol son aún motivo de estudio^{46, 47}.

De acuerdo con las publicaciones más recientes, el efecto tóxico del alcohol es dosis dependiente⁴⁸, sin embargo la cantidad de alcohol que se precisa y la duración del abuso del alcohol no se conocen. Mientras que un consumo moderado (1-2 bebidas diarias en varones y no más de una bebida diaria en mujeres) se ha asociado con una disminución del riesgo de mortalidad, un consumo mayor se asocia con un incremento del riesgo cardiovascular⁴⁹. El consumo agudo de gran cantidad de alcohol genera inflamación miocárdica clínicamente detectable por el aumento de los niveles de troponina en sangre y la presencia de taquiarritmias auriculares⁵⁰. El consumo crónico genera hipertrofia, apoptosis y necrosis de miocitos, disfunción de estructuras intracelulares, degeneración mitocondrial, modificación de las proteínas contráctiles, fibrosis y alteración de la homeostasis del calcio⁵¹. Estos efectos intracelulares, asociados con la activación de mecanismos compensatorios, deletéreos a largo plazo (activación del sistema nervioso simpático y del sistema renina-angiotensina, citoquinas y péptido natriurético) contribuye a la fisiopatología de la MCA, que consiste en una disminución del gasto cardíaco, dilatación ventricular, aumento de la precarga e hipertrofia de miocitos⁵². Sin embargo, los hallazgos histológicos (fibrosis intersticial, infiltrados inflamatorios, aumento de los depósitos de ácidos grasos y desproporción relativa de las distintas proteínas sarcoméricas) no difieren de los otros tipos de MCD.

Aunque varios trabajos han tratado de estimar la prevalencia de la MCA, los datos no son concluyentes. La miocardiopatía dilatada alcohólica representa en algunos estudios el 21-32% de los casos de MCD⁵³, aumentando en otros hasta el 40%⁴², por lo que se considera la principal causa de miocardiopatía dilatada no isquémica en nuestro medio. La prevalencia de MCA es similar en hombres y mujeres⁵⁴. El

mayor consumo de alcohol en varones se ve compensado por la mayor susceptibilidad de las mujeres al daño inducido por el alcohol: la concentración en sangre alcanza niveles más altos en las mujeres debido a una menor cantidad de agua libre total y a una menor cantidad de enzimas metabolizadoras.

1.3.4 Miocardiopatía dilatada alcohólica: historia natural, clínica, diagnóstico y tratamiento

A pesar de su importancia clínica y epidemiológica sólo un pequeño número de trabajos han investigado la historia natural y los factores pronósticos⁵⁵⁻⁶⁴ de la MCA. La mayoría son trabajos pequeños realizados a lo largo de periodos de tiempo prolongados, en los que se valora la morfología y función cardiacas con diferentes métodos. La historia natural de la MCA se define como una enfermedad crónica que se inicia con una etapa subclínica en la que se objetiva disfunción diastólica del ventrículo izquierdo. Sigue la fase de disfunción sistólica, con descenso progresivo de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo. En esta etapa aparecen los eventos de insuficiencia cardiaca congestiva y arritmias, con claro incremento de mortalidad en los sujetos que mantienen un consumo de alcohol a dosis elevadas⁶⁵. Desde hace años se conoce la potencial reversibilidad de la MCA en aquellos pacientes que suspenden el consumo alcohólico, después de lo cual muchos pacientes recuperaban la función sistólica. Sin embargo había varias cuestiones pendientes de resolver que han motivado varios trabajos recientes. La primera de ellas era si es preciso que el paciente deje por completo el consumo alcohólico o bastaría con disminuir la ingesta para lograr esta recuperación. La respuesta tradicional era que es imprescindible el abandono completo del alcohol. Los últimos trabajos^{63, 64, 66} indican sin embargo que el pronóstico de los pacientes que reducen el consumo de alcohol es igual de favorable que el de los pacientes

que lo suspenden por completo. No obstante y dada la dificultad que estos pacientes pueden tener para controlar su consumo lo mejor es recomendarles el abandono completo del alcohol. Por otra parte no se conocía el pronóstico a largo plazo de los pacientes que recuperaban la función sistólica. Recientemente⁶⁴ se ha demostrado el excelente pronóstico que tienen estos pacientes, de modo que aquellos que alcanzan una fracción de eyección del ventrículo izquierdo por encima del 40% no sufren eventos adversos. Factores que predicen esta recuperación son tener un QRS estrecho, el tratamiento betabloqueante y no necesitar tratamiento diurético, todos ellos en relación con presentar una enfermedad menos avanzada. En la cohorte más extensa publicada hasta la fecha sobre la historia natural de la MCA⁶³ se objetiva como un 30% de los pacientes mueren o son sometidos a trasplante cardiaco, un 37% recuperan la fracción de eyección del ventrículo izquierdo y un 33% permanecen clínicamente estables a pesar de la disfunción ventricular. El trabajo además estudia los factores que predicen una peor evolución, siendo estos que el paciente tenga fibrilación auricular, un QRS superior a 120 milisegundos y la ausencia de tratamiento betabloqueante. Comparados con los pacientes con MCD idiopática los enfermos con MCA tienen un mejor pronóstico.

Las manifestaciones clínicas de la MCA aparecen cuando el daño es avanzado y en algunos casos irreversible. Los síntomas están relacionados con la disminución del gasto cardiaco, y no difieren de los presentes en los casos de insuficiencia cardiaca de otras etiologías: disnea, inicialmente de esfuerzo, edema periférico, cansancio, etc. En la exploración física podemos encontrar taquiarritmia, ingurgitación yugular, tercer o cuarto tono^{43, 44}. Además, los pacientes pueden tener signos de

enfermedad hepática, malnutrición, o alteraciones neurológicas debidas al abuso de alcohol⁶⁷.

Sin embargo no existen datos clínicos, analíticos ni histológicos específicos para el diagnóstico. Parámetros analíticos, como la gamma-glutamyl-transpeptidasa, el volumen corpuscular medio, y la transferrina deficiente en carbohidratos se pueden usar para confirmar la sospecha de abuso de alcohol, la enfermedad hepática coexistente y para monitorizar la abstinencia⁶⁷. Una radiografía de tórax puede evidenciar cardiomegalia, congestión pulmonar o derrame pleural. En el ECG se pueden observar alteraciones inespecíficas del segmento ST y/o de la onda T, así como arritmias secundarias a la dilatación cardíaca, con fibrilación auricular⁵². Por último, el ecocardiograma permite excluir otras causas de insuficiencia cardíaca e identificar la presencia de dilatación y disfunción sistólica.

El tratamiento de la MCA, además del abandono del alcohol, es el mismo que el de la insuficiencia cardíaca de otras etiologías⁶⁸. Los pacientes deben recibir tratamiento betabloqueante, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) o antagonistas de los receptores de angiotensina (ARA2). A esto se añadirían otros fármacos en función de la persistencia de síntomas o la presencia de arritmias. También sería preciso valorar la necesidad de resincronización, implante de desfibrilador o finalmente trasplante cardíaco.

Capítulo 2:

**HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR
CONFIRMADA GENÉTICAMENTE EN
PACIENTES CON SÍNDROME CORONARIO
AGUDO**

CAPITULO 2. HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR CONFIRMADA GENÉTICAMENTE EN PACIENTES CON SÍNDROME CORONARIO AGUDO.

2.1 OBJETIVOS DEL ESTUDIO

1. Evaluar la prevalencia de HF confirmada mediante estudio genético en pacientes que han sufrido un síndrome coronario agudo (SCA).
2. Comparar el rendimiento diagnóstico del estudio genético frente a los criterios clínicos habitualmente utilizados para el diagnóstico de HF.

2.2 HIPÓTESIS

Un porcentaje desconocido de los pacientes que sufren un SCA a edad temprana padecen una HF y el rendimiento del estudio genético en este grupo de pacientes puede ser alto.

2.3 MATERIAL Y MÉTODOS

2.3.1 Diseño y población del estudio

Se revisaron las historias clínicas de todos los pacientes con 65 años o menos, ingresados en el Hospital Universitario Puerta de Hierro de Madrid por un SCA desde el 1 de enero de 2012 hasta el 31 de marzo de 2016. Se contactó telefónicamente con todos los pacientes que en la analítica de ingreso tenían unas cifras de LDL-colesterol real o estimado superior a 160 mg/dl (4,14 mmol/l) y se les ofreció la realización de un estudio genético para el diagnóstico de HF. En los pacientes que al ingreso estaban bajo tratamiento con estatinas o ezetimibe, los niveles de LDL-colesterol se estimaron multiplicando los niveles bajo tratamiento obtenidos en la analítica por factores de corrección en función del fármaco y su

dosis, tal como se describe en estudios previos^{7, 69, 70}. No se consideró el efecto de otros fármacos hipolipemiantes.

Los niveles de LDL-C se calcularon de acuerdo con la fórmula de Friedewal⁷¹. Los pacientes fueron excluidos del estudio si sus niveles de triglicéridos eran > 350 mg/dl (4 mmol/l). También se excluyó a los pacientes en los que no existía información sobre los niveles de colesterol al ingreso y aquellos con trastornos lipídicos secundarios a enfermedades renales, tiroideas o hepáticas.

Se recogieron muestras de sangre o saliva para el análisis de ADN de los pacientes que cumplían los criterios y aceptaron participar en el estudio y, simultáneamente, se recopilaron datos sobre sus antecedentes personales y familiares y se realizó un examen físico. El protocolo del estudio cumplía con la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité ético del Hospital Universitario Puerta de Hierro. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado antes de participar en el estudio.

El proceso de selección de pacientes se representa en la figura 4.

Figura 4. Proceso de selección de pacientes con síndrome coronario agudo participantes en el estudio.

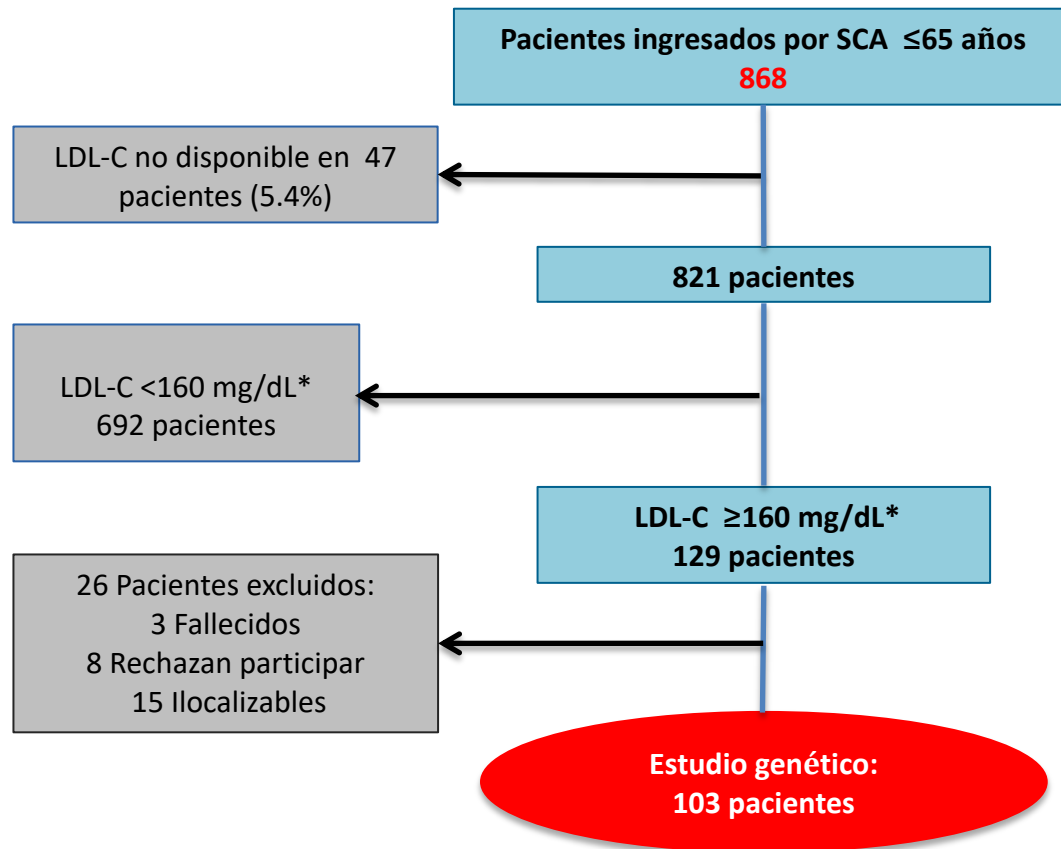


Diagrama de flujo que muestra los pasos sucesivos en la realización del estudio. *En los pacientes en tratamiento con estatinas o ezetimibe se estimaron los niveles de LDL-C mediante factores de corrección. SCA: Síndrome coronario agudo.

2.3.2 Criterios clínicos de HF

El diagnóstico clínico de HF se basó en dos grupos de criterios clínicos ampliamente utilizados y recomendados por las guías internacionales de práctica clínica. Los criterios de Simon Broome (SB)¹¹, recomendados por las guías del Instituto Nacional de Salud del Reino Unido consideran que los pacientes padecen una posible HF cuando existen unas cifras de colesterol total >290 mg/dl o cifras de LDL-C >190 mg/dl si existe historia familiar de enfermedad coronaria prematura

(Tabla 4). El diagnóstico definitivo requiere los niveles de colesterol previos y la presencia signos físicos de hipercolesterolemia (xantomas tendinosos) en el paciente o sus familiares.

Los criterios de la Red Holandesa de Lípidos (DLC)⁹, respaldados por la Sociedad Europea de Cardiología, la Asociación Nacional de Lípidos de Estados Unidos, la Fundación Internacional de HF y la Sociedad Europea de Aterosclerosis, consideran las cifras de LDL-C, signos físicos y una historia personal o familiar de enfermedad coronaria prematura estableciendo un sistema de puntuación (Tabla 2). Se considera como HF posible una puntuación de 3 a 5 y una HF probable con más de 6 puntos.

Tanto los criterios de Simon Broome como los de la Red Holandesa incluyen el estudio genético positivo entre los parámetros a considerar (y es por sí mismo, al menos para los criterios DLC, diagnóstico de HF definitiva). Debido a que la información genética generalmente no está disponible para la mayoría de los médicos y a que nuestra intención era comparar el rendimiento diagnóstico de las pruebas genéticas con los criterios clínicos, la información genética no se consideró al calcular los criterios clínicos de HF con ambos algoritmos.

2.3.3 Secuenciación de ADN

El ADN se extrajo de muestras de saliva o sangre periférica. La muestra se enriqueció con una solución personalizada (Lipid inCode, Ferrer inCode, Barcelona, España). El diseño se basó en el genoma humano de referencia (hg19) y se definieron secuencias de 120 pares de bases para cubrir todas las regiones de interés. El procedimiento se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante con algunas modificaciones resultado de validaciones internas. De forma resumida,

50 nanogramos de ADN de doble cadena de alta calidad de cada muestra se fragmentaron enzimáticamente, y tras la hibridación con la solución, se amplificaron las librerías mediante reacción en cadena de la polimerasa y se indexaron. Se cuantificaron las librerías finales y se evaluó su calidad en un bioanalizador, utilizando chips de ADN de alta sensibilidad. Todas las librerías se agruparon y secuenciaron (hasta 40 por lectura). El proceso de secuenciación se desarrolló en un sistema integrado que usa una longitud de lectura de 2x75 pares de bases.

La plataforma de diagnóstico in vitro utilizada realizó el análisis completo de los promotores, regiones codificantes y regiones exón-intrón de cinco genes asociados con HF (*LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *APOE* y *STAP1*) y 2 genes asociados con otras enfermedades que tienen características clínicas similares a la HF (hipercolesterolemia autosómica recesiva (*LDLRAP1*) y la deficiencia de lipasa ácida lisosomal (*LIPA*)).

La cobertura media mínima fue de 696 lecturas por posición y >100% de los fragmentos (regiones génicas así como polimorfismos de un solo nucleótido) tuvieron una cobertura >30 lecturas. Se utilizó secuenciación mediante la técnica Sanger para confirmar las variantes genéticas encontradas.

2.3.4 Datos sobre las variantes y clasificación

El análisis de las variantes se describe en el Anexo 1. Las variantes con una frecuencia alélica <1% en la población general se consideraron variantes no comunes. La posible patogenicidad de las variantes raras se evaluó según las recomendaciones publicadas por el Colegio Americano de Genética y Genómica médica (ACMG)⁷², en las cuales se evalúan diferentes criterios: tipo y frecuencia de

la variante, datos funcionales si están disponibles, apoyo científico e información bioinformática para predecir la patogenicidad en regiones genómicas (predictores bioinformáticos PolyPhen2, Provean v.1.1.2 y Mutation Taster2) o intrónicas (MaxEntScan, NNSplice, FSPLICE y GenSplicer entre otros). Además para completar la evaluación de las variantes genéticas también se incluyó información sobre >2200 variantes genómicas relacionadas con HF procedente de una base de datos privada. Las variantes con relevancia clínica se informaron como patogénicas (Clase I), probablemente patogénicas (clase II) y variantes de significado incierto (VSI), (Clase III).

A todos los familiares de primer grado de pacientes con variantes patogénicas y probablemente patogénicas se les ofreció evaluación clínica y genética. También se les propuso evaluación clínica y genética a los familiares de primer grado de pacientes con VSI que, según las recomendaciones del ACMG podrían ser reclasificadas como variantes patogénicas si cosegregaban con el fenotipo clínico en más de dos familiares. Las VSI sin datos corroborativos en el estudio familiar permanecieron como VSI.

2.3.5 Análisis estadístico

Las variables continuas se expresan con la media y la desviación estándar (DE), mientras que las variables discretas se presentan como porcentajes. El análisis de las diferencias en las características entre los grupos se realizó mediante el uso de medidas estandarizadas del tamaño del efecto, estimación de odds ratio para las variables categóricas o d de Cohen para los valores numéricos, así como sus correspondientes intervalos de confianza al 95% (IC). El nivel de significación estadística se estableció con un valor de $p < 0,05$. Los análisis estadísticos se

realizaron utilizando el programa IBM SPSS Statistics para Windows versión 22.0 (IBM SPSS Statistics, IBM Corporation, Armonk, Nueva York) y Stata / IC versión 14.2 (StataCorp LLC, College Station, Texas).

2.4 RESULTADOS

La cohorte de estudio incluyó 103 pacientes (edad media $54 \pm 6,7$ años, rango 37-65 años), el 87,4% de los cuales eran varones, ingresados por un SCA. Cuarenta y siete pacientes ingresaron por SCA con elevación del segmento ST, 47 por SCA sin elevación del segmento ST y 9 por angina inestable. El nivel medio de LDL-C al ingreso fue de $189,5 \pm 34,7$ mg/dl, pero sólo 39 pacientes (37,9%) estaban bajo tratamiento con estatinas. Dieciséis pacientes (15,5%) tenían antecedentes de enfermedad coronaria; 3 (2,9%) tenían antecedentes de ictus y 6 (5,8%) tenían enfermedad vascular periférica. Ninguno de los pacientes había sido diagnosticado previamente de HF por sus médicos de atención primaria o especialistas. Otras características clínicas de la cohorte se presentan en la tabla 7 .

Tabla 7. Características clínicas basales de la cohorte

Variable	N=103
Edad media al ingreso (años)	54±6.7
Varones, n (%)	90 (87.4%)
Raza blanca, n (%)	91 (88.3%)
Hipertensión, n (%)	42 (40.8%)
Diabetes, n (%)	18 (17.5%)
Hábito tabáquico, n (%)	58 (56.3%)
Abuso del alcohol, n (%)	15 (14.6%)
Creatinina (mg/dL)	0.9±0.2
Tasa de filtrado glomerular (mL/min/1.73m ²)	93.3±18.2
Colesterol total (mg/dL)	241.3±35.7
LDL-colesterol (mg/dL)	189.5±34.7
HDL-colesterol (mg/dL)	41.8±10
Triglicéridos (mg/dL)	154.2±61.7
Tratados con estatinas al ingreso, n (%)	39 (37.9%)
Otros fármacos hipolipemiantes, n (%)	8 (7.8%)
Angina inestable, n (%)	9 (8.7%)
SCASEST, n (%)	47 (45.6%)
SCACEST, n (%)	47 (45.6%)
Enfermedad coronaria previa, n (%)	16 (15.5%)
Ictus, n (%)	3 (2.9%)
Enfermedad vascular periférica, n (%)	6 (5.8%)
Xantomas tendinosos, n (%)	4 (3.9%)
Arco corneal, n (%)	1 (1%)

Los valores son media ± desviación estándar o n(%)

HDL-colesterol: Lipoproteínas de alta densidad. LDL-colesterol: Lipoproteínas de baja densidad.

SCASEST: Síndrome coronario agudo sin elevación del ST. SCACEST: Síndrome coronario agudo con elevación del ST

Después de la evaluación clínica utilizando el algoritmo DLC, 12 pacientes (11,7%) cumplían los criterios de HF definitiva y 16 pacientes (15,5%) tenían HF probable. Por tanto, los criterios DLC clasificaron a 28 pacientes (27,2%) como HF probable o definitiva. En base a los criterios de SB, 28 pacientes (27,1%) tenían HF definitiva (n=2, 1,9%) o posible (n=26, 25,2%) (Tabla 8).

Tabla 8. Prevalencia de HF según los criterios clínicos versus el estudio genético.

Criterios DLC	Criterios de Simon Broome	Estudio genético
HF improbable: 23 (22.3%)	HF improbable: 75 (72.8%)	Negativo: 62 (60.2%)
HF posible: 53 (51.5%)	HF posible: 26 (25.2%)	VSI: 31 (30.1%)
HF probable: 15 (14.6%)	HF definitiva: 2 (1.9%)	Patogénica: 10 (9.7%)
HF definitiva: 12 (11.7%)		
Los valores son n (%). HF: Hipercolesterolemia familiar. VSI: Variantes de significado incierto.		

El estudio genético mostró nueve mutaciones patogénicas o probablemente patogénicas para HF en heterocigosis en nueve pacientes (8,7%). Se identificaron siete mutaciones en el gen *LDLR*, una en *PCSK9* y una en *STAP1* (Tabla 9). También se encontraron cinco VSI en los pacientes con mutaciones patogénicas o probablemente patogénicas para HF. Treinta y dos pacientes tenían 35 VSI y sesenta y dos individuos (60,2%) no tenían ninguna variante genética en los genes relacionados con HF. Además siete pacientes eran heterocigotos para variantes en el gen *LDLRAP1* (hipercolesterolemia autosómica recesiva) y cinco pacientes portaban variantes heterocigotas en el gen *LIPA* (mutaciones homocigotas en este gen causan la deficiencia de lipasa ácida lisosomal).

Tabla 9. Variantes genéticas identificadas en pacientes con SCA
MUTACIONES PATOGENICAS/PROBABLEMENTE PATOGENICAS
GEN <i>LDLR</i>
<i>LDLR</i> - c.514G>A, p.(Asp172Asn)
<i>LDLR</i> - c.418G>A, p.(Glu140Lys)
<i>LDLR</i> - c.1618G>A, p.(Ala540Thr)
<i>LDLR</i> - c.1444G>A, p.(Asp482Asn)
<i>LDLR</i> - c.401G>T, p.(Cys134Phe)
<i>LDLR</i> - c.862G>A, p.(Glu288Lys)
<i>LDLR</i> - c.313+1G>C, p.(?)
GEN <i>PCSK9</i>
<i>PCSK9</i> - c.-331C>A, p.(?)
GEN <i>APOB</i>
<i>APOB</i> - c.11477C>T, p.(Thr3826Met)
GEN <i>STAP1</i>
<i>STAP1</i> - c.291G>C, p.(Glu97Asp)
GEN <i>LIPA</i>
<i>LIPA</i> - c.894G>A, p.(298=) †
VARIANTES DE SIGNIFICADO INCIERTO
GEN <i>LDLR</i>
<i>LDLR</i> - c.274C>G, p.(Gln92Glu)
<i>LDLR</i> - c.596C>T, p.(Ala199Val)
<i>LDLR</i> - c.892A>G, p.(Met298Val)
<i>LDLR</i> - c.1536C>G, p.(Phe512Leu)
<i>LDLR</i> - c.68-14T>C, p.(?)
<i>LDLR</i> - c.*28C>G, p.(?)
<i>LDLR</i> - c.694+25C>T, p.(?)
GEN <i>APOB</i>
<i>APOB</i> - c.4696T>C, p.(Tyr1566His)
<i>APOB</i> - c.5066G>A, p.(Arg1689His)
<i>APOB</i> - c.10607C>T, p.(Ser3536Phe)
<i>APOB</i> - c.9140C>G, p.(Thr3047Arg)
<i>APOB</i> - c.12794T>C, p.(Val4265Ala) †
<i>APOB</i> - c.9105T>C, p.(Asn3035=)
<i>APOB</i> - c.6639_6641del, p.(Asp2213del)
<i>APOB</i> - c.3383G>A, p.(Arg1128His)
<i>APOB</i> - c.3509-11C>T, p.(?)
<i>APOB</i> - c.8045G>T, p.(Ser2682Ile)
<i>APOB</i> - c.13277T>C, p.(Ile4426Thr)
<i>APOB</i> - c.3712C>A, p.(Leu1238Ile)

<i>APOB</i> - c.2068-4T>A, p.(?)
<i>APOB</i> - c.11354C>T, p.(Thr3785Ile))
<i>APOB</i> - c.1088T>C, p.(Val363Ala)
<i>APOB</i> - c.8462C>T, p.(Pro2821Leu)
<i>APOB</i> - c.7615G>A, p.(Val2539Ile)
<i>APOB</i> - c.694-21C>T, p.(?)
<i>APOB</i> - c.66_67insCTGCTG, p.(Leu22_Ala23insLeuLeu)
<i>APOB</i> - c.2295G>A, p.(Leu765=)
GEN PCSK9
<i>PCSK9</i> - c.132C>T, p.(Ala44=)
<i>PCSK9</i> - c.1354+9G>T, p.(?)
<i>PCSK9</i> - c.835C>A, p.(Pro279Thr)
<i>PCSK9</i> - c.1978G>A, p.(Asp660Asn)
<i>PCSK9</i> - c.1354+12G>A, p.(?)
<i>PCSK9</i> - c.1247T>G, p.(Ile416Ser)
GEN STAP1
<i>STAP1</i> - c.35G>A, p.(Arg12His)
<i>STAP1</i> - c.-60A>G, p.(?) †
<i>STAP1</i> - c.693C>T, p.(Ser231=)
GEN LDLRAP1
<i>LDLRAP1</i> - c.-92G>T, p.(?)
<i>LDLRAP1</i> - c.602C>G, p.(Pro201Arg)
<i>LDLRAP1</i> - c.604_605delTCinsCA, p.(Ser202His)
<i>LDLRAP1</i> - c.396C>T, p.(Ile132=)
<i>LDLRAP1</i> - c.672C>T, p.(Ser224=)
<i>LDLRAP1</i> -c.71_72delGCinsTT, p.(Gly24Val)
<i>LDLRAP1</i> - c.811G>A, p.(Val271Ile)
GEN LIPA
<i>LIPA</i> - c.891C>T, p.(Ser297=)
<i>LIPA</i> - c.-218C>A, p.(?)
<i>LIPA</i> - c.754A>T, p.(Ile252Leu)
GEN APOE
<i>APOE</i> - c.369C>T, (Gly123=)
† Identificado en dos individuos

Se ofreció evaluación genética y clínica a parientes de primer grado de los nueve pacientes con mutaciones patogénicas o probablemente patogénicas y a los familiares de los 6 pacientes con VSI (3 en *LDLR*, 2 en *APOB* y 1 en *PCSK9*, Tabla 9)

que, según las recomendaciones del ACMG, podrían reclasificarse como patogénicas o probablemente patogénicas⁷².

El estudio familiar no pudo realizarse o fue rechazado en cinco familias (dos con variantes patogénicas o probablemente patogénicas y tres con VSI). Finalmente se realizó un estudio clínico y genético en 21 pacientes de primer grado de diez familias (siete con mutación patogénica o posiblemente patogénica y tres con VSI, Tabla 10). La evaluación familiar no permitió reclasificar ninguna VSI según los criterios del ACMG⁷². Por tanto, la prevalencia final de HF genéticamente confirmada entre los pacientes con SCA ≤ 65 años y con LDL-colesterol ≥ 160 mg/dl fue del 8,7% (con un intervalo de confianza (IC) al 95% de 4,3 al 16,4%, n=9) (Figura 5).

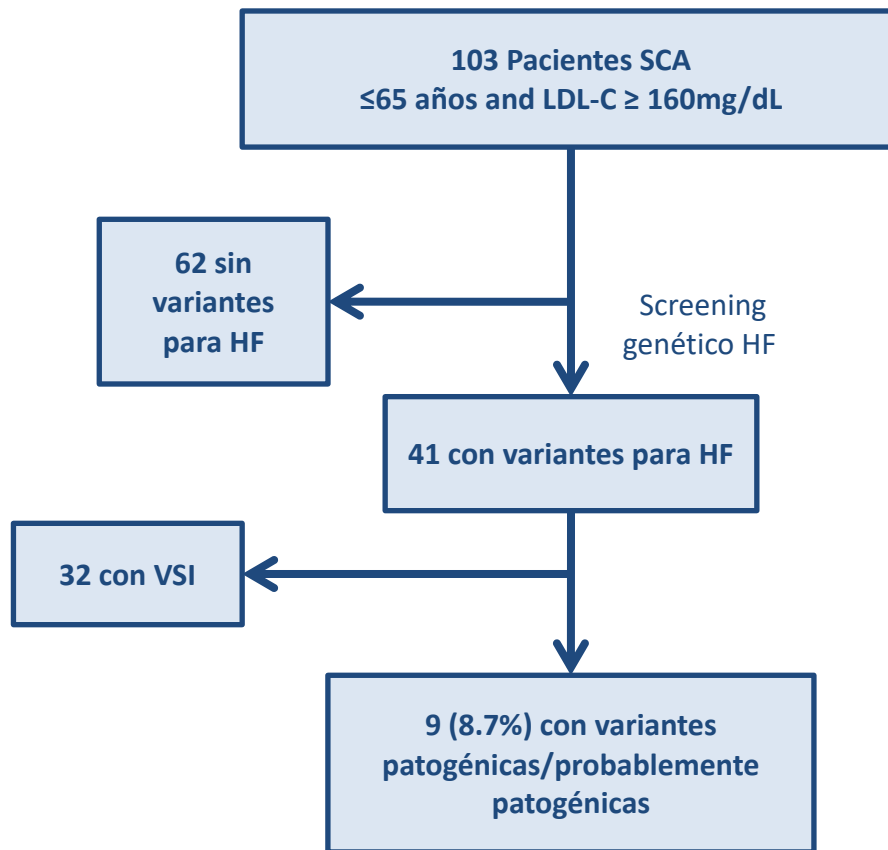
Tabla 10. Evaluación familiar en pacientes con mutaciones patogénicas/probablemente patogénicas para HF o VSI

Estudio familiar en familiares de primer grado de pacientes con mutaciones patogénicas o probablemente patogénicas para HF

Paciente 1		LDLR - c.514G>A, p.(Asp172Asn)
1.1	Hija	Portadora. Colesterol total 218, LDL 148, HDL 56, Tg 70
1.2	Hijo	Portador. Colesterol total 234, LDL 160, HDL 52, Tg 111
Paciente 2		LDLR - c.418G>A, p.(Glu140Lys)
2.1	Hija	Portadora. Colesterol total 270, LDL 193, HDL 65,
Paciente 3		LDLR - c.1618G>A, p.(Ala540Thr)
3.1	Hijo	Portador. Colesterol total 271, LDL 197, HDL 53
Paciente 4		LDLR - c.1444G>A, p.(Asp482Asn)
No fue posible estudio familiar		
Paciente 5		LDLR - c.401G>T, p.(Cys134Phe)
5.1	Hija	No portadora. Colesterol total 260, LDL 147, HDL 88
Paciente 6		PCSK9 - c.-331C>A, p.(?)
6.1	Hijo	No portador. Colesterol total 163, LDL 100, HDL 52, Tg 55
Paciente 7		STAP1 - c.291G>C, p.(Glu97Asp)
7.1	Hija	Portadora. Colesterol total 166, LDL 99, HDL 50
Paciente 8		LDLR - c.862G>A, p.(Glu288Lys)
No fue posible estudio familiar		

Paciente 9		LDLR - c.313+1G>C, p.(?)
9.1	Hijo	No portador. Colesterol total 133, LDL 78, HDL 40, Tg 73
9.2	Hijo	No portador. Colesterol total 141, LDL 83, HDL 46, Tg 58
9.3	Hija	No portadora. Colesterol total 172, LDL 100, HDL 56, Tg 81
9.4	Hijo	No portador. Colesterol total 173, LDL 113, HDL 44, Tg 78
9.5	Hija	Portadora. LDL-C 202 (6 años)
Estudio familiar en familiares de primer grado de pacientes con VSI		
Paciente 10		PCSK9 - c.835C>A, p.(Pro279Thr)
10.1	Hija	Portadora. Colesterol total 230, LDL 158, HDL 45, Tg 134
10.2	Hijo	Portador. Colesterol total 148, LDL 76, HDL 52, Tg 102
Paciente 11		APOB - c.2068-4T>A, p.(?)
11.1	Hijo	Portador. Colesterol total 138, LDL 97, HDL 33, Tg 35
11.2	Hermano	Portador. Colesterol total 185, LDL 121, HDL 31
11.3	Hermano	No portador. Colesterol total 187, LDL 67, HDL 42 Tg 390
11.4	Hermana	No portadora. Colesterol total 213, LDL 146, HDL 45, Tg 109
Paciente 12		APOB - c.11477C>T, p.(Thr3826Met).
12.1	Hermano	Portador. Bajo tratamiento Colesterol total 224, LDL 73, HDL 34
12.2	Hermano	No portador. Colesterol total 233, LDL 142, HDL 75, Tg 75
12.3	Hermana	Portadora. Colesterol total 257, LDL 171, HDL 70, Tg 83
Paciente 13		LDLR - c.1536C>G, p.(Phe512Leu)
No fue posible estudio familiar		
Paciente 14		LDLR - c.68-14T>C, p.(?); PCSK9 - c.1247T>G, p.(Ile416Ser)
No fue posible estudio familiar		
Paciente 15		LDLR - c.596C>T, p.(Ala199Val)
No fue posible estudio familiar		

Figura 5. Resultados del estudio genético realizado en pacientes con síndrome coronario agudo.



HF: Hipercolesterolemia Familiar. VSI: Variantes de significado incierto. SCA: Síndrome Coronario Agudo

Se compararon las características clínicas, analíticas y de tratamiento de los pacientes con SCA con y sin mutaciones para HF (Tabla 11). Cuando se comparó el diagnóstico de HF mediante estudio genético frente al diagnóstico mediante criterios clínicos, 4 pacientes (44%) con HF confirmada genéticamente no fueron diagnosticados mediante los criterios DLC, y 3 (33%) no fueron diagnosticados mediante los criterios SB (Tabla 12). Por el contrario, 82,1% (IC 95%: 62,4% a 93,2%; n=23) de los pacientes diagnosticados mediante los criterios DLC y 78,6% (IC 95%: 58,5% a 90,9%, n=22) diagnosticados mediante los criterios SB no tenían ninguna mutación para HF.

El estudio familiar condujo al diagnóstico de 6 familiares con mutaciones para HF, de los que 4 tenían cifras de LCL-colesterol elevadas o estaban ya en tratamiento con estatinas (Tabla 10).

Tabla 11. Características de los pacientes con SCA con y sin HF genéticamente confirmada.			
	Mutación HF (n=9)	Sin mutación HF (n=94)	Tamaño del efecto estándar (IC 95%)
Varones, n (%)	8 (87.2)	82 (88.9)	1.17 (0.13 a 56.21)
Edad media al ingreso (años)	55±5.9	54±6.8	0.15 (-0.54 a 0.83)
Raza blanca, n (%)	8 (88.9)	83 (88.3)	1.06 (0.12 a 51.26)
Con estatinas al ingreso, n (%)	4 (44.4)	35 (37.2)	1.35 (0.25 a 6.71)
Hipertensión, n (%)	3 (33.3)	39 (41.5)	0.71 (0.11 a 3.56)
Diabetes, n (%)	1 (11.1)	17 (18.1)	0.57 (0.01 a 4.75)
Hábito tabáquico, n (%)	6 (66.7)	52 (55.9)	1.62 (0.32 a 10.53)
Enfermedad coronaria previa, n (%)	1 (11.1)	15 (16)	0.66 (0.01 a 5.59)
Ictus, n (%)	1 (11.1)	2 (2.1)	5.75 (0.09 a 118.39)
Enfermedad vascular periférica, n (%)	0	6 (6.4)	---
Colesterol total(mg/dL)	256.6±52.2	239.8±33.7	0.47 (-0.22 a 1.16)
LDL-colesterol (mg/dL)	222.3±52.5	186.4±31.1	1.08 (0.38 a 1.78)
HDL-colesterol (mg/dL)	40.22±7.2	41.97±10.5	-0.17 (-0.85 a 0.51)
Triglicéridos (mg/dL)	121.9±32.7	157.3±62.9	-0.58 (-1.27 a 0.11)
Historia familiar de enfermedad coronaria (Criterios DLC)	4 (44.4)	17 (18.1)	3.62 (0.64 a 8.58)
Historia familiar de enfermedad coronaria (Criterios SB)	5 (55.6)	31 (33)	2.54 (0.50 a 13.62)
Los valores son n(%) o media ±Desviación estándar. IC: intervalo de confianza.			

Tabla 12. Puntuaciones según criterios clínicos de los pacientes con o sin mutación para HF

	Mutación HF (n=9)	Sin mutación +VSI(n=94)	Odds ratio (95% IC)
Criterios de la red holandesa (DLC)			
HF Improbable	0	23 (24,5%)	
HF Posible	4 (44,4%)	48 (51,1%)	
HF Probable	2 (22,2%)	14 (14,9%)	
HF Definitivo	3 (33,3%)	9 (9,6%)	
Criterios DLC (probable o definitivo)	5 (55,5%)	23 (24,5%)	3,86 (0,75-20,86)
Criterios de Simon Broome (SB)			
Improbable	3 (33,3%)	72 (76,6%)	
HF Posible	6 (66,7%)	20 (21,3%)	
HF Definitiva	0	2 (2,1%)	
Criterios SB (posible o definitivo)	6 (66,7%)	22 (23,4%)	6,54 (1,25-42,79)

Los valores son n (%)

Finalmente, la naturaleza retrospectiva de nuestro estudio nos permitió analizar los niveles de LDL-C al año en pacientes con SCA y con HF confirmada genéticamente identificados en este trabajo. Sólo uno de los nueve pacientes tenía niveles de LDL-C por debajo de 70 mg/dl, tal como se recomienda en las guías de práctica clínica. Dos pacientes tenían niveles entre 70 y 100 mg/dl y seis pacientes tenían niveles de LDL-C superiores a 100 mg/dl, a pesar de que la mayoría de ellos estaba en tratamiento con altas dosis de fármacos hipolipemiantes (Tabla 13).

Tabla 13. Niveles de LDL colesterol un año después del SCA en pacientes con HF genéticamente confirmada

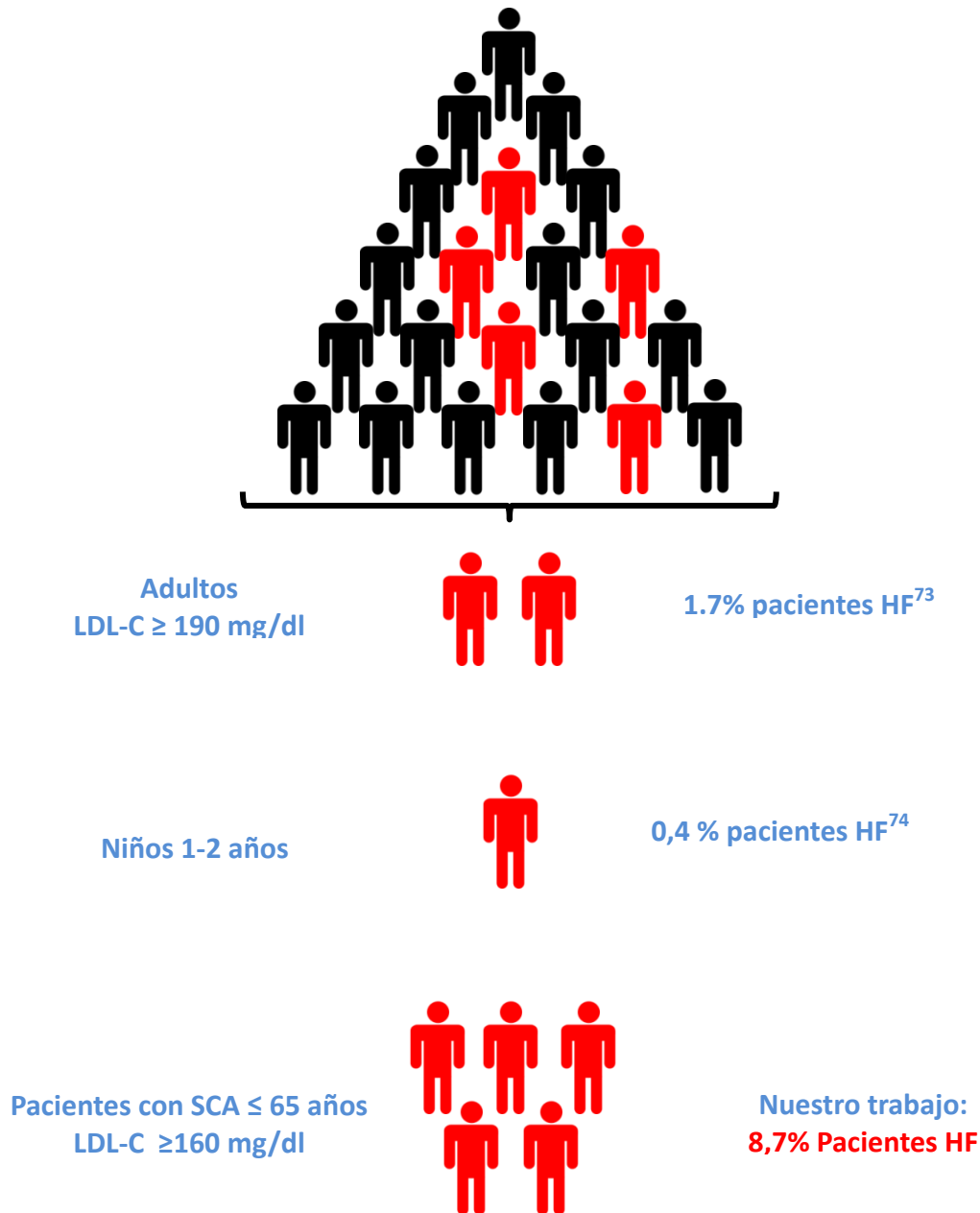
Pacientes	Gen	Mutación	Colesterol LDL (mg/dL)	Tratamiento hipolipemiante
Paciente n.1	LDLR	c.514G>A, p.(Asp172Asn)	112	Rosuvastatina 10 mg
Paciente n.2	LDLR	c.418G>A, p.(Glu140Lys)	117	Atorvastatina 80 mg + Ezetimibe 10 mg
Paciente n.3	LDLR	c.1618G>A, p.(Ala540Thr)	142	Atorvastatina 80 mg
Paciente n.4	LDLR	c. 1444G>A, p.(Asp482Asn)	147	Atorvastatina 40 mg
Paciente n.5	LDLR	c.401G>T, p.(Cys134Phe)	143	Atorvastatina 80 mg + Ezetimibe 10 mg
Paciente n.6	PCSK9	c.-331C>A, p.(?)	83	Rosuvastatina 10 mg
Paciente n.7	STAP1	c.291G>C, p.(Glu97Asp)	45	Rosuvastatina 40 mg + Ezetimibe 10 mg
Paciente n.8	LDLR	c.862G>A, p.(Glu288Lys)	99	Atorvastatina 80 mg
Paciente n.9	LDLR	c. 313+1G>C, p.(?)	149	Pitavastatina 4 mg + Ezetimibe 10 mg
Paciente n.12	APOB	c.11477C>T, p.(Thr3826Met)	79	Rosuvastatina 40 mg

2.5 DISCUSIÓN

El estudio describe por primera vez un estudio genético completo de los genes asociados con HF en pacientes con SCA ≤ 65 años y con LDL-C ≥ 160 mg/dl. Nuestro estudio muestra que la prevalencia de HF confirmada genéticamente en estos pacientes es de aproximadamente el 9%. Este hallazgo está muy por debajo de la prevalencia de HF estimada por los criterios clínicos para el diagnóstico de HF más ampliamente aceptados (27% en nuestra cohorte), pero al mismo tiempo es muy superior a lo que se había informado en estudios previos de detección genética en HF^{73, 74} (Figura 6). Además nuestro estudio muestra que los algoritmos clínicos usados para el diagnóstico de HF no identifican con precisión a los pacientes portadores de HF entre los pacientes con SCA, mientras que las pruebas genéticas en esta población son útiles para facilitar el diagnóstico precoz de los pacientes y sus familiares en situación de riesgo. El diagnóstico precoz de la HF es esencial, porque muchos pacientes con HF desconocen su enfermedad, que es una de las principales causas de enfermedad coronaria temprana. La identificación de HF permite un asesoramiento específico acerca de la dieta y los factores de riesgo cardiovascular, y asegura la prescripción de estatinas a dosis altas y la derivación adecuada de los miembros de la familia para la detección de la enfermedad en ellos.

Las recientes guías europeas para la prevención de la enfermedad coronaria en HF subrayan la utilidad de identificar mutaciones causales para facilitar el cribado en cascada⁷⁵. Aunque este cribado es el mejor medio para identificar a los pacientes con HF, ya que pueden ser diagnosticados antes de que ocurra un evento, requiere una identificación previa de los probandos, lo cual no es fácil.

Figura 6. Resultados de programas de screening genético de hipercolesterolemia familiar.



La detección genética de la hipercolesterolemia familiar en pacientes jóvenes con síndrome coronario agudo y altos niveles de LDL-C mejora la detección de la HF. Los resultados del cribado de HF en esta cohorte de 103 pacientes jóvenes (<65 años de edad) con SCA y niveles de LDL-C > 160 mg/dl se compararon con un estudio de cribado genético reciente⁷³ en adultos con niveles elevados de LDL-C > 190 mg/dl y con un programa de cribado genético en atención primaria en niños de 1 a 2 años durante las visitas rutinarias para vacunación⁷⁴.

Los resultados de estudios recientes de cribado en los que la selección de los sujetos participantes se basó únicamente en cifras elevadas de LDL-colesterol fueron desalentadores, identificando mutaciones de HF solamente en <2% de los

pacientes con hipercolesterolemia grave^{73, 76}. Este bajo rendimiento cuestiona la utilidad de los programas de cribado genético en pacientes no seleccionados con niveles elevados de LDL-colesterol. Además puso de manifiesto la necesidad de encontrar otros escenarios clínicos en los que el cribado genético tenga un mejor rendimiento⁷⁶. Dos enfoques en edad pediátrica: a) detección nacional de lactantes con niveles muy altos de colesterol total, y b) programas de detección en atención primaria durante las visitas rutinarias para la vacunación, han resultado ser muy buenas estrategias. Así lo demuestran 2 estudios recientes realizados en Eslovenia y en el Reino Unido^{74, 77}. Por desgracia, la implementación de programas nacionales de detección en niños es compleja y esta herramienta no puede aplicarse en muchos países. Por el contrario, la identificación de individuos con HF durante la hospitalización por un SCA podría ser de gran interés en ausencia de programas nacionales para la detección de la HF. El SCA puede ser la primera manifestación de HF, y un evento grave, como un SCA podría tener un gran impacto entre los familiares, facilitando el estudio familiar.

A pesar de que su importancia se sospechaba, la prevalencia de HF en el síndrome coronario agudo en jóvenes nunca había sido investigada mediante un estudio genético completo, y el único estudio realizado describía una tasa de detección muy baja⁷⁸. Wald y sus compañeros encontraron una prevalencia de HF de un 1,3% en pacientes jóvenes (≤ 50 años) tras un infarto agudo de miocardio en un hospital de Londres. A diferencia de nuestro estudio, el análisis genético realizado por estos investigadores incluyó solamente un panel de 48 mutaciones conocidas de HF y deleciones o duplicaciones de exones completos del gen *LDLR* independientemente de los niveles de colesterol, seguido por la secuenciación por técnica Sanger del gen *LDLR* en individuos sin mutaciones y un colesterol total >

271 mg/dl. En nuestro estudio por el contrario utilizamos *next-generation sequencing* para estudiar las regiones promotoras, codificantes y los límites intrón-exón de 5 genes causantes de HF. Estas diferencias metodológicas, junto con una selección menos restrictiva (incluimos individuos hasta 65 años de edad y con niveles de LDL-colesterol ≥ 160 mg/dl) podrían explicar las diferencias entre los dos estudios, y deberían considerarse al diseñar programas de detección genética.

La prevalencia de HF en pacientes con SCA ha sido estudiada recientemente en Europa mediante el uso de criterios clínicos de HF^{79, 80}. En la cohorte suiza SPUM-ACS (Special Program University Medicine-Acute Coronary Syndromes), que incluyó a 4778 pacientes con SCA, el 1,6% (IC 95%:1,3-2,0%) de los pacientes cumplían criterios de HF probable o definitiva de acuerdo con los criterios DLC⁸⁰. La prevalencia de HF fue del 4,8% en 1451 pacientes con SCA y enfermedad coronaria prematura (<55 años en varones y <60 años en mujeres). En más de 7000 pacientes europeos con enfermedad coronaria del estudio EUROASPIRE IV (European Action on Secondary and Primary prevention through Intervention to Reduce Events) la prevalencia de HF probable o definitiva fue del 8,3% en la cohorte completa, pero del 15,4% en los 2212 pacientes con menos de 60 años⁷⁹. Nuestro estudio identifica una prevalencia de HF del 27,2% (IC 95% 1,9 a 37%) según los criterios DLC y SB. Creemos que esta mayor prevalencia en nuestra cohorte se debe en parte al umbral de LDL-C que establecimos, que seleccionó individuos con una mayor probabilidad pre-test. Además, los datos sobre los signos clínicos de acumulación de lípidos en el tejido, así como la información sobre los antecedentes familiares de niveles elevados de LDL-C no estaban disponibles para los investigadores del estudio SPUM-ACS, y decidieron que la información no disponible puntuase como cero en el algoritmo DLC⁸⁰. Por el

contrario, en nuestro estudio pudimos realizar un examen físico en todos los participantes (la presencia de xantomas es uno de los ítems que más puntúa en los criterios clínicos) y también obtuvimos datos de sus antecedentes personales y familiares. Estos 2 factores críticos (umbral de LDL-C en la población seleccionada y la información clínica y familiar) podrían explicar la mayor prevalencia de HF según los criterios clínicos identificada en nuestro estudio.

Sin embargo, uno de los hallazgos principales de nuestro trabajo fue la demostración de que los criterios clínicos usados para el diagnóstico de HF son incapaces de identificar correctamente a los pacientes con SCA con y sin HF. Como mostramos aquí, entre el 30% y el 40% de los pacientes con mutaciones para HF confirmadas genéticamente no se detectaron utilizando criterios clínicos de HF, mientras que más de tres cuartas partes de los pacientes con SCA diagnosticados de HF según los criterios clínicos no eran portadores de ninguna mutación de HF. Nuestros hallazgos están en la misma línea de otras publicaciones recientes^{81, 82}, que también han demostrado que los criterios clínicos de HF no identificaron pacientes con HF en comparación con las pruebas genéticas. Sin embargo nuestros hallazgos deben considerarse únicamente en el contexto del SCA, en el cual la información disponible sobre la prevalencia de HF está restringida a los criterios clínicos de HF^{79, 80}.

Recientemente varios expertos en HF concluían que 3 de los ítems utilizados en los criterios clínicos para el diagnóstico de HF no son ya tan útiles como antes⁸³. Con el uso generalizado de estatinas en los últimos 30 años los niveles medios de LDL-C en la población general son más bajos, los signos físicos, como los xantomas, se ven

con menor frecuencia y debido a que las familias cada vez cuentan con menos miembros, la información sobre antecedentes familiares es menos significativa.

Nuestros resultados también muestran que los criterios clínicos de HF no parecen ser útiles en pacientes con SCA prematuro, y el alto rendimiento del estudio genético aconsejaría la adopción de estrategias que incluyeran pruebas genéticas sobre los criterios clínicos en este escenario.

El estudio de coste-efectividad del Instituto Nacional de excelencia en Salud y Cuidado del Reino Unido⁸⁴ concluyó que el estudio familiar en cascada era más eficiente cuando se guiaba por pruebas genéticas para una mutación de HF ya conocida. Debido al estudio genético realizado en nuestro trabajo, ya no es necesario realizar estudio clínico para HF en los familiares de numerosos participantes que no presentan mutaciones para HF, independiente de los criterios clínicos que cumpla el probando.

Nuestro trabajo también aporta algunos datos sobre el impacto de la identificación de HF genéticamente confirmada entre pacientes con SCA. En el seguimiento a un año sólo un paciente con HF tenía niveles de LDL-C < 70 mg/dl, tal como recomiendan las guías, a pesar de que la mayoría recibía altas dosis de estatinas, y en algunos casos también ezetimibe. Datos recientes muestran que los pacientes con HF identificados mediante el uso de criterios clínicos tienen un riesgo ajustado de recurrencia de eventos coronarios durante el primer año tras el alta > 2 veces con respecto a los pacientes sin HF⁸⁵; otros investigadores han mostrado que la gran mayoría de los pacientes con HF no alcanzan los niveles objetivo de LDL-C recomendados para la prevención secundaria^{80, 85, 86}. Estos resultados subrayan la necesidad de una mejor monitorización y utilización de la medicación disponible

en pacientes con HF. El diagnóstico precoz de la HF es extremadamente importante para identificar a las personas con enfermedad coronaria y un mayor riesgo, que deben ser tratados de forma más agresiva tras un evento coronario.

Finalmente, nuestro trabajo mostró los beneficios del cribado genético de HF a nivel familiar, ya que la máxima utilidad del estudio genético no es identificar a los sujetos con HF que ya han sufrido un evento, sino identificar otros sujetos con HF en riesgo de sufrir eventos futuros y que pueden evitarse. En nuestro estudio el cribado genético permitió el diagnóstico de HF en 6 familiares de primer grado que no habrían sido identificados por criterios clínicos en la mayoría de los casos. Como ejemplo de diagnóstico precoz de HF realizado mediante cribado genético en sujetos con SCA en nuestro estudio identificamos una niña de 6 años con HF y un nivel de LDL-C de 202 mg/dl (familia 9, Tabla 10). Dada la importancia del diagnóstico precoz de la HF antes de que ocurra un evento, creemos que los estudios genéticos constituyen una herramienta fundamental para mejorar el pronóstico de estos pacientes.

2.6 LIMITACIONES

La mayoría de los pacientes de nuestro estudio eran varones de raza blanca, lo que puede limitar la aplicación de los resultados. Las cifras de LDL-C se midieron en las primeras 48 horas del ingreso tras el SCA, y algunas evidencias sugieren que los niveles de LDL-C disminuyen durante ese tiempo. Además se calculó el nivel de LDL-C basal en aquellos pacientes que estaban bajo tratamiento con estatinas y/o ezetimibe al ingreso en función de tablas. Este enfoque puede estimar de forma imprecisa el nivel de LDL-C dada la heterogeneidad de los diferentes fármacos, su dosis y la respuesta individual, así como si existe o no mutación para HF. Además la secuenciación mediante *next generation sequencing* no detecta inversiones ni traslocaciones. Aunque estas alteraciones genéticas probablemente no sean causas principales de HF no podemos conocer su efecto en nuestra cohorte. A pesar de que el precio de las pruebas genéticas para la HF es ahora bajo (entre 300 y 350 euros) y el estudio en cascada es más eficiente cuando se realiza guiado por pruebas genéticas, las consecuencias que tendría la adopción de programas de cribado genético a gran escala en pacientes con SCA según los criterios usados en nuestro estudio en términos de coste efectividad son desconocidos. Finalmente debe tenerse en cuenta la naturaleza unicéntrica y retrospectiva de nuestro trabajo y nuestros resultados deberían ser replicados, de forma ideal mediante un gran estudio prospectivo.

Capítulo 3:

**UNA ETIOLÓGICA GENÉTICA PARA LA
TOXICIDAD CARDIACA INDUCIDA POR
ALCOHOL**

CAPÍTULO 3. UNA ETIOLOGÍA GENÉTICA PARA LA TOXICIDAD CARDIACA INDUCIDA POR ALCOHOL

3.1 OBJETIVOS DEL ESTUDIO

1. Evaluar el papel que los genes asociados con la miocardiopatía dilatada (MCD) juegan en la fisiopatología de la miocardiopatía dilatada alcohólica (MCA).
2. Examinar los efectos de la ingesta de alcohol y el genotipo en el desarrollo de la MCA.

3.2 HIPÓTESIS

Dado que no todos los pacientes que consumen alcohol en exceso desarrollan toxicidad cardiaca, deben existir factores genéticos y ambientales que modifican la susceptibilidad y predisponen a la aparición de miocardiopatía dilatada en este grupo de pacientes.

3.3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.3.1 Diseño y población del estudio

Se llevó a cabo la secuenciación genética de 141 individuos con MCA y se comparó con 455 individuos sanos, 366 pacientes con MCD y datos de frecuencia poblacional de 60.706 pacientes extraídos del Exome Aggregation Consortium (ExAC). Además evaluamos el efecto fenotípico del consumo excesivo de alcohol (por debajo de los niveles requeridos para un diagnóstico de MCD) en el contexto de variantes de truncamiento en el gen de la Titina (TTNtv) en una cohorte más amplia de 716 pacientes con MCD.

El estudio se ajustó a los principios éticos de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité ético del Hospital Universitario Puerta de Hierro (Majadahonda, Madrid) y por el Comité de Ética en investigación del Sistema

Nacional de Salud Británico. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado.

3.3.2 Cohorte de miocardiopatía dilatada alcohólica (MCA)

Se reclutó un total de 141 pacientes no relacionados diagnosticados de MCA y procedentes de 6 hospitales españoles (Tabla 14). Se definió la MCA como MCD con una historia de consumo elevado y prolongado de alcohol; es decir: un historial informado por el propio paciente de consumo de alcohol de más de 80 gramos diarios durante un período de al menos 5 años^{43, 48, 63} mantenido hasta 3 meses o menos antes del diagnóstico de MCA, combinado con MCD definida por los criterios establecidos. Estos son: dilatación ventricular izquierda y fracción de eyección reducida en ausencia de enfermedad arterial coronaria (evidencia angiográfica invasiva o mediante TAC>50% de estenosis en cualquier arteria coronaria epicárdica principal, intervención coronaria percutánea previa o injerto de derivación de arteria coronaria) o condiciones de carga anormales (hipertensión no controlada o enfermedad valvular primaria significativa). La información de los resultados se recopiló hasta el último seguimiento disponible, o en el momento de la muerte o el trasplante, y el tiempo de seguimiento se truncó a los 12 años.

Tabla 14. Características clínicas basales de las tres cohortes de pacientes.

	MCA (n=141)	MCD (n=366)	Voluntarios sanos (n=445)
Edad en el estudio (años)	53,2 ± 10,0	56,0 ± 13,6	40,8 ± 13,5
Fracción de eyección ventricular izquierda(Eco) %	26,5 ± 9,3	--	--
Fracción de eyección ventricular izquierda(RMC) %	--	38,7 ± 12,8	66,1 ± 5,1
Diámetro telediastólico ventricular izquierdo (eco)mm	65,6 ± 9,1	--	--
Volumen telediastólico ventricular izquierdo (ml)	--	257,7 ± 82,6	149,3 ± 32,6
Hombres	138 (97,9)	255 (69,7)	201 (45,2)
Etnia (Caucásica)	141 (100,0)	366 (100,0)	445 (100,0)

Los Valores son media ± desviación estándar o n (%)

MCA = Miocardiopatía Alcohólica; MCD = Miocardiopatía dilatada; RMC = Resonancia Magnética Cardíaca; Eco: Ecocardiograma

Aunque no se realizó un programa específico de deshabituación alcohólica se recomendó la abstinencia completa a todos los pacientes con MCA. Las variables de evaluación principal se preespecificaron como: 1) muerte o trasplante cardíaco y 2) recuperación cardíaca, definida como un aumento absoluto en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) $\geq 10\%$ hasta un valor $\geq 40\%$ ⁶⁴. El análisis de supervivencia midió el tiempo desde el diagnóstico (primera evaluación en la unidad de insuficiencia cardíaca) hasta el primer evento. Tanto el tratamiento como la adjudicación de resultados fueron ciegos para el genotipo.

3.3.3 Cohorte de miocardiopatía dilatada

Un total de 716 pacientes consecutivos con MCD confirmada por resonancia magnética cardíaca con secuencias de realce tardío fueron incluidos de forma prospectiva en el biobanco del Hospital Royal Brompton de Londres entre 2009 y 2015⁸⁷. El diagnóstico de MCD se estableció basándose en los criterios de dilatación ventricular izquierda y disminución de la FEVI según nomogramas

ajustados por edad y sexo⁸⁸, en ausencia de enfermedad coronaria conocida (definida como la presencia de realce tardío de gadolinio subendocárdico sugestivo de antecedentes de infarto de miocardio o una estenosis superior al 50% en cualquier arteria epicárdica principal, o bien intervención coronaria percutánea previa o derivación coronaria quirúrgica), o condiciones de carga anormales, como se ha descrito para la MCA. La cohorte completa de 716 pacientes fue evaluada para la presencia de variantes en el gen de la *TTN* así como la exposición al alcohol y un subgrupo de 366 casos no relacionados, que se habían analizado mediante la misma técnica de estudio genético y eran de la misma raza que los sujetos de la cohorte de MCA, se seleccionaron para realizar un análisis genético comparativo con la cohorte de MCA.

3.3.4 Cohorte de voluntarios sanos

Un total de 445 voluntarios sanos, libres de enfermedad cardiovascular autoinformada o antecedentes familiares de enfermedad fueron reclutados prospectivamente mediante anuncios publicitarios dentro del proyecto “U.K. Digital Heart Project” en el MRC-LMS, Imperial College de Londres⁸⁹. Todos los participantes se sometieron a una evaluación clínica, incluida la resonancia magnética cardiaca para confirmar la ausencia de enfermedad cardiovascular.

3.3.5 Análisis genético mediante secuenciación de “nueva generación” y análisis de las variantes.

Los detalles completos de la secuenciación, filtrado y anotación de las variantes se incluyen en el Anexo 2.

En resumen, la secuenciación se llevó a cabo mediante el kit Illumina TruSight Cardio Sequencing (San Diego, California)⁹⁰, o un kit personalizado SureSelect XT

de Agilent (Santa Clara, California) con contenido similar y ejecutado en plataformas Illumina o Life Technologies 5500XL (Waltham, Massachusetts). Se identificaron variantes raras (frecuencia de filtrado alélico en ExAC < $8,4 \times 10^{-5}$)⁹¹ en genes y tipos de variantes que han demostrado estar claramente asociadas con MCD (Tabla 15).

Tabla 15. Genes de miocardiopatía dilatada y clases de variantes incluidas en el análisis

Gen	No Truncamiento	Truncamiento	ID de transcripción
<i>BAG3</i>	SÍ	SÍ	ENST00000369085
<i>LMNA</i>	SÍ	SÍ	ENST00000368300
<i>TCAP</i>	SÍ	SÍ	ENST00000309889
<i>TNNC1</i>	SÍ	SÍ	ENST00000232975
<i>TNNT2</i>	SÍ	SÍ	ENST00000367318
<i>DSP</i>	NO	SÍ	ENST00000379802
<i>SCN5A</i>	NO	SÍ	ENST00000333535
<i>TTN</i>	NO	SÍ	ENST00000589042
<i>MYH7</i>	SÍ	NO	ENST00000355349

Los genes evaluados en este estudio son aquellos con un exceso demostrado de variantes raras en cohortes clínicas de MCD sobre muestras de referencia ExAC, para variantes truncadoras o no truncadoras⁹², así como *BAG3*, que se ha establecido como un gen importante para MCD⁹³. Los genes que se creen asociados principalmente con MCD pediátrica (*TPM1* y *VCL*) no se incluyeron⁹⁴.

En el caso de la titina (*TTN*), el análisis fue restringido de forma adicional a variantes de truncamiento en exones expresados de forma constitutiva en el corazón³⁹. Aunque el kit de secuenciación Illumina TruSight Cardio captura 61 genes supuestamente asociados con MCD (la lista completa de genes y variantes detectadas se describe en la Tabla 16) decidimos ser más conservadores y preespecificar un análisis centrado en 9 genes con la evidencia más sólida de asociación con la enfermedad (*TTN*, *DSP*, *MYH7*, *LMNA*, *TNNT2*, *TCAP*, *SCN5A*, *BAG3*

y *TNNC1*) y comparar la prevalencia de variantes raras en sujetos emparejados tanto técnicamente (panel TruSight Cardio y plataforma NextSeq, ambos de Illumina) como por grupo étnico (autoinformado caucásico, confirmado por análisis PCA, ver Anexo 2). Los 9 genes evaluados son aquellos con un exceso demostrado de variantes raras en cohortes clínicas de MCD sobre muestras de referencia en el ExAC, para variantes de truncamiento o no truncadoras^{92, 95}.

3.3.6 Análisis estadístico

Se llevó a cabo una regresión lineal univariable para identificar variables predictivas de la evolución de la FEVI en el reclutamiento del estudio. La FEVI se midió de forma ciega, antes de conocer el fenotipo. Todas las variables con $p < 0,10$ en el análisis univariable se incluyeron en un modelo multivariable que luego se optimizó mediante una selección por pasos inversa, incluyendo finalmente sólo variables significativas ($p < 0,05$).

Los análisis estadísticos se realizaron en el entorno R, versión 3.0 (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria). Todos los datos y códigos necesarios para reproducir estos análisis están disponibles on line⁹⁶.

Tabla 16. Listado completo de genes analizados			
Genes	Transcripción	Genes	Transcripción
<i>ABCC9</i>	ENST00000261201	<i>LDB3</i>	ENST00000361373
<i>ACTA1</i>	ENST00000366684	<i>LMNA</i>	ENST00000368300
<i>ACTC1</i>	ENST00000290378	<i>MURC</i>	ENST00000307584
<i>ACTN2</i>	ENST00000366578	<i>MYBPC3</i>	ENST00000545968
<i>ALMS1</i>	ENST00000264448	<i>MYH6</i>	ENST00000356287
<i>ANKRD1</i>	ENST00000371697	<i>MYH7</i>	ENST00000355349
<i>BAG3</i>	ENST00000369085	<i>MYPN</i>	ENST00000358913
<i>CRYAB</i>	ENST00000526180	<i>NEXN</i>	ENST00000334785
<i>CSRP3</i>	ENST00000533783	<i>NPPA</i>	ENST00000376480
<i>CTF1</i>	ENST00000279804	<i>PDLIM3</i>	ENST00000284770
<i>DES</i>	ENST00000373960	<i>PKP2</i>	ENST00000070846
<i>DMD</i>	ENST00000357033	<i>PLN</i>	ENST00000357525
<i>DNAJC19</i>	ENST00000382564	<i>PRDM16</i>	ENST00000270722
<i>DOLK</i>	ENST00000372586	<i>RBM20</i>	ENST00000369519
<i>DSC2</i>	ENST00000280904	<i>SCN5A</i>	ENST00000333535
<i>DSG2</i>	ENST00000261590	<i>SDHA</i>	ENST00000264932
<i>DSP</i>	ENST00000379802	<i>SGCB</i>	ENST00000381431
<i>DTNA</i>	ENST00000348997	<i>SGCD</i>	ENST00000337851
<i>EMD</i>	ENST00000369842	<i>SGCG</i>	ENST00000218867
<i>EYA4</i>	ENST00000367895	<i>TAZ</i>	ENST00000299328
<i>FHL2</i>	ENST00000358129	<i>TBX20</i>	ENST00000408931
<i>FKRP</i>	ENST00000391909	<i>TCAP</i>	ENST00000309889
<i>FKTN</i>	ENST00000223528	<i>TMPO</i>	ENST00000266732
<i>GATAD1</i>	ENST00000287957	<i>TNNC1</i>	ENST00000232975
<i>HADHA</i>	ENST00000380649	<i>TNNI3</i>	ENST00000344887
<i>HFE</i>	ENST00000357618	<i>TNNT2</i>	ENST00000367318
<i>ILK</i>	ENST00000299421	<i>TPM1</i>	ENST00000403994
<i>JUP</i>	ENST00000393930	<i>TTN</i>	ENST00000589042
<i>LAMA2</i>	ENST00000421865	<i>TXNRD2</i>	ENST00000400521
<i>LAMA4</i>	ENST00000424408	<i>VCL</i>	ENST00000211998
<i>LAMP2</i>	ENST00000200639		

3.4 RESULTADOS

Para investigar la potencial contribución de los genes implicados en miocardiopatía dilatada a la MCA, examinamos los casos de presencia de variantes raras en 9 genes conocidos por causar MCD, seleccionados de acuerdo con su exceso de variantes genéticas infrecuentes en MCD previamente informadas en comparación con sujetos control⁹². La frecuencia de las variantes se comparó después entre los casos de MCA, MCD técnica y étnicamente emparejados y los voluntarios sanos (n=141, n=366 y n=455, respectivamente) (las características de las cohortes se muestran en la tabla 14).

Identificamos 20 variantes diferentes en 19 casos de MCA implicando 4 genes distintos (Tablas 17, 18 y 19 A y B). La prevalencia de las variantes en MCA fue significativamente mayor que en los voluntarios sanos (13.5% de los casos de MCA tienen al menos 1 variante, vs 2,9% de voluntarios sanos; $p=0,000012$), pero no hay diferencias estadísticas con respecto a la prevalencia en la cohorte de MCD (19,4%; $p=0,12$). La tasa en voluntarios sanos fue la esperada para la población general (Tabla 18). Las variantes de truncamiento en *TTN* (TTNtv) representan la mayoría de las variantes detectadas en los casos de MCA (9,9%) y se encontraron con una frecuencia similar a la observada en MCD (12%, $p=0,64$), y significativamente más alta que en sujetos control (0,7%, $p=4,4 \times 10^{-7}$). De acuerdo con los estudios realizados en MCD^{28, 38, 39, 89}, las TTNtv encontradas en MCA se encuentran en exones expresados de forma constitutiva en el corazón y distribuidos a lo largo de todo el gen (Figura 7), siendo 13 de 14 nuevas (es decir, no reportadas previamente en casos de MCD, voluntarios sanos ni en el ExAC).

Tabla 17. Análisis de la carga de variantes en genes relacionados con miocardiopatía dilatada en las diferentes cohortes

	MCA (n=141)	MCD (n=366)	Voluntarios sanos (n=445)	*MCA vs. MCD	*MCA vs. Voluntario s sanos	*MCA vs. Voluntarios sanos
Todos los genes	19 (13,5) (7,8%-19,1%)	71 (19,4) (15,3%-23,4%)	13 (2,9) (1,4%-4,5%)	0,12	$1,2 \times 10^{-5}$	$5,4 \times 10^{-15}$
TTNtv	14 (9,9) (5,0%-14,9%)	44 (12,0) (8,7%-15,4%)	3 (0,7) (0,0%-1,4%)	0,64	$4,4 \times 10^{-7}$	$6,4 \times 10^{-12}$
Otros genes no TTN	6 (4,3) (0,9%-7,6%)	28 (7,7) (4,9%-10,4%)	10 (2,2) (0,9%-3,6%)	0,23	0,23	0,00035

Los Valores son n (%) (Intervalo de confianza al 95%) Se muestra el número de casos individuales con una variante rara. Las variantes TTN son sólo TTNtv. Otras variantes son como las descritas en la **Tabla 15**. En MCA, un caso tenía una variante TTNtv y otra en LMNA. En MCD, un caso tenía una variante TTNtv y otra en BAG3. *Valor de p sin ajustar (prueba exacta de Fisher) TTNtv = Variante de truncamiento en TTN. Otras abreviaturas como en la **Tabla 14**.

Identificamos 6 casos de MCA con variantes raras en otros genes implicados en MCD: 1 portador de una variante de truncamiento en *BAG3*, informada previamente en MCD⁹⁷, y clasificada como patogénica según las normas actuales de interpretación de variantes del Colegio Americano de Genética Médica (ACMG)⁷² (Tablas 19A y 19B), una nueva variante missense en *BAG3*, 1 portador de TTNtv junto a una nueva variante missense en *LMNA* y 3 casos con 3 variantes diferentes en *MYH7*.

Tabla 18. Resumen de las variantes identificadas en casos de miocardiopatía dilatada alcohólica, casos emparejados de miocardiopatía dilatada y voluntarios sanos (VS).

	MCA (N=141)	MCD (N=366)	VS (N=445)	*ExAC (n=60706)
BAG3-noTV	1 (0.7%)	1 (0.3%)	2 (0.4%)	500 (0.84%)
BAG3-TV	1 (0.7%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (0.01%)
DSP-TV	0 (0%)	3 (0.8%)	0 (0%)	42 (0.07%)
LMNA-noTV	1 (0.7%)	3 (0.8%)	1 (0.2%)	297 (0.58%)
LMNA-TV	0 (0%)	2 (0.5%)	0 (0%)	8 (0.02%)
MYH7-noTV	3 (2.1%)	12 (3.3%)	6 (1.3%)	815 (1.35%)
SCN5A-TV	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	34 (0.06%)
TCAP-TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	14 (0.03%)
TCAP-noTV	0 (0%)	1 (0.3%)	0 (0%)	120 (0.22%)
TNNC1-TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (0.003%)
TNNC1-noTV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	33 (0.06%)
TNNT2-TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	17 (0.03%)
TNNT2-noTV	0 (0%)	6 (1.6%)	0 (0%)	120 (0.21%)
TTNtv	14 (9.9%)	44 (12%)	3 (0.7%)	484 (0.83%)
Todos los genes no TTN	6 (4.3%)	28 (7.7%)	10 (2.2%)	2006 (3.48%)
Todos los genes	19 (13.5%)	71 (19.4%)	13 (2.9%)	2490 (4.31%)

La tabla muestra el número (y %) de casos identificados con variantes raras en cada gen, enumeradas según el tipo de variante, donde truncamiento (TV) significa stop-gain, pérdida del marco de lectura o del sitio esencial del empalme y noTV corresponde con variantes missense e inframark indels. *Para el ExAC, la frecuencia se calculó dividiendo la suma de variantes raras entre la media del número total de alelos en todos los sitios que alteran la proteína (para explicar la cobertura variable de la secuenciación completa del exoma en el conjunto de datos ExAC).

Tabla 19A. Listado de variantes individuales detectadas en la cohorte de miocardiopatía dilatada alcohólica (MCA)									
Gen	HGVSG	HGVSC	HGVSP	Consecuencia	ExAC AF	Filtering AF	Filtering AF pop	Clase ACMG*	Normas ACMG
<i>BAG3</i>	chr10: g.[121436753A>G]	c.1687A>G	p.Ser563Gly	Variante missense	0	0	-	VUS	PM2,BP4
<i>BAG3</i>	chr10: g.[121435991C>T]	c.925C>T	p.Arg309Ter	stop gained	0	0	-	P	PVS1,PM2, PP1_strong
<i>LMNA</i>	chr1: g.[156106934A>G]	c.1519A>G	p.Ser507Gly	Variante missense	0	0	-	VUS	PM2,PP2
<i>MYH7</i>	chr14: g.[23902931G>A]	c.11C>T	p.Ser4Leu	Variante missense	1.65E-05	5.00E-06	Nfe	VUS	PM2,PP2
<i>MYH7</i>	chr14: g.[23888715C>T]	c.3830G>A	p.Arg1277Gln	Variante missense	4.12E-05	2.10E-05	Sas	VUS	PM2,PP2
<i>MYH7</i>	chr14: g.[23884269G>A]	c.5494C>T	p.Arg1832Cys	Variante missense	4.94E-05	2.90E-05	Nfe	VUS	PM2,PP3, PP2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179604345T>TA]	c.13614dupT	p.Asn4539Ter	Variante frameshift	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179497710CCCAG>C]	c.43144_43147delCTGG	p.Leu14382Val fsTer2	Variante frameshift	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179483389C>A]	c.46888G>T	p.Gly15630Ter	stop gained	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179472344T>TAAGA]	c.53067_53070dupTCTT	p.Arg17691Ser fsTer2	Variante frameshift	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179460363G>A]	c.57718C>T	p.Arg19240Ter	stop gained	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179458482A>T]	c.58545T>A	p.Tyr19515Ter	stop gained	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179453529CT>C]	c.62922delA	p.Val20975Ter	Variante frameshift	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2

<i>TTN</i>	chr2: g.[179450018G>A]	c.64453C>T	p.Arg21485Ter	stop gained	2.48E-05	3.00E-05	Amr	LP	PVS1_strong,PM2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179445288AAT>A]	c.66816_66817delAT	p.Leu22273ThrsTer24	Variante frameshift	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179439702GATGACATCACC>G]	c.71146_71156delGGTGATGTCAT	p.Gly23716HisfsTer6	Variante frameshift	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179436227C>A]	c.74632G>T	p.Glu24878Ter	stop gained	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179435424C>T]	c.75435G>A	p.Trp25145Ter	stop gained	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179427746GT>G]	c.83112delA	p.Glu27704AspfsTer19	Variante frameshift	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2
<i>TTN</i>	chr2: g.[179424037C>G]	c.86821+1G>C	-	Variante splice donor	0	0	-	LP	PVS1_strong,PM2

*La clase de la ACMG⁷² se determinó usando CardioClassifier⁹⁸ seguido de revisión manual de segregación, datos funcionales y de novo de la literatura y ClinVar. P = Patogénico, PP = Probablemente patogénico, VSI = variante de significado incierto. Filtrado AF pop: Nfe: europeo no finlandés, Sas: sudasiático, Amr:americano

Tabla 19B. Listado de variantes individuales detectadas en las cohortes de miocardiopatía dilatada (MCD) y voluntarios sanos (VS).

Cohorte	Gen	HGVSG	HGVSC	HGVSP	Consecuencia	ExAC AF	Filtering AF	Filtering AF pop
MCD	<i>BAG3</i>	chr10: g.[121436280C>T]	c.1214C>T	p.Ala405Val	missense variant	8.24E-05	5.90E-05	Nfe
MCD	<i>DSP</i>	chr6: g.[7569571CAAGT>C]	c.1574+3_1574+6del AAGT	-	splice donor variant & coding sequence variant	0	0	-
MCD	<i>DSP</i>	chr6: g.[7581218GA>G]	c.4797delA	p.Gly1600AlafsTer2	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>DSP</i>	chr6: g.[7585569CAGAA>C]	c.8077_8080delAAAG	p.Lys2693ProfsTer3	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>LMNA</i>	chr1: g.[156085067T>G]	c.356+2T>G	-	splice donor variant	0	0	-
MCD	<i>LMNA</i>	chr1: g.[156104248C>T]	c.568C>T	p.Arg190Trp	missense variant	0	0	-
MCD	<i>LMNA</i>	chr1: g.[156104249G>A]	c.569G>A	p.Arg190Gln	missense variant	0	0	-
MCD	<i>LMNA</i>	chr1: g.[156104287G>A]	c.607G>A	p.Glu203Lys	missense variant	0	0	-
MCD	<i>LMNA</i>	chr1: g.[156104757T>G]	c.801T>G	p.Tyr267Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23899092C>T]	c.1030G>A	p.Glu344Lys	missense variant	0	0	-
MCD	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23898190C>T]	c.1381G>A	p.Asp461Asn	missense variant	0	0	-
MCD	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23894494C>T]	c.2420G>A	p.Arg807His	missense variant	8.24E-06	0	ninguno
MCD	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23894036T>A]	c.2621A>T	p.Glu874Val	missense variant	0	0	-
MCD	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23893328G>A]	c.2710C>T	p.Arg904Cys	missense variant	8.24E-06	0	Ninguno
MCD	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23893327C>T]	c.2711G>A	p.Arg904His	missense variant	0	0	-
MCD	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23891455T>A]	c.3179A>T	p.Lys1060Met	missense variant	0	0	-
MCD	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23887584G>A]	c.4004C>T	p.Ser1335Leu	missense variant	3.30E-05	5.00E-06	Nfe
MCD	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23887491G>A]	c.4097C>T	p.Ser1366Leu	missense variant	2.47E-05	2.10E-05	Sas
MCD	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23887462C>T]	c.4126G>A	p.Glu1376Lys	missense variant	0	0	-
MCD	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23901919C>A]	c.431G>T	p.Gly144Val	missense variant	0	0	-
MCD	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23884966G>A]	c.5029C>T	p.Arg1677Cys	missense variant	1.65E-05	0	Ninguno

MCD	<i>TCAP</i>	chr17: g.[37821664C>T]	c.52C>T	p.Arg18Trp	missense variant	0	0	-
MCD	<i>TNNT2</i>	chr1: g.[201333470G>A]	c.415C>T	p.Arg139Cys	missense variant	0	0	-
MCD	<i>TNNT2</i>	chr1: g.[201333434G>A]	c.451C>T	p.Arg151Cys	missense variant	0	0	-
MCD	<i>TNNT2</i>	chr1: g.[201331144G>A]	c.586C>T	p.Arg196Trp	missense variant	0	0	-
MCD	<i>TNNT2</i>	chr1: g.[201331117G>A]	c.613C>T	p.Arg205Trp	missense variant	0	0	-
MCD	<i>TNNT2</i>	chr1: g.[201331098ATCT>A]	c.629_631delAGA	p.Lys210del	inframe deletion	0	0	-
MCD	<i>TNNT2</i>	chr1: g.[201331098ATCT>A]	c.629_631delAGA	p.Lys210del	inframe deletion	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179398383AT>A]	c.102958delA	p.Ile34320SerfsTer29	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179623709A>G]	c.10303+2T>C	-	splice donor variant	8.24E-06	0	Ninguno
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179393848CT>C]	c.106629delA	p.Ala35544ProfsTer2	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179605315CTG>C]	c.12643_12644delCA	p.Gln4215ValfsTer16	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179500850GC>G]	c.41447delG	p.Gly13816AlafsTer18	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179500825G>A]	c.41473C>T	p.Arg13825Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179497005GTGGTGT GTAGGCCG>G]	c.43602_43615delGC GCCTACACACCA	p.Gln14534HisfsTer23	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179495982AC>A]	c.43792delG	p.Val14598Ter	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179486244G>A]	c.45307C>T	p.Arg15103Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179485525A>C]	c.45812T>G	p.Leu15271Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179641961CTTTCA>C]	c.4724_4728delTGAA A	p.Met1575SerfsTer6	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179482115G>T]	c.47697C>A	p.Cys15899Ter	stop gained	0	0	-

MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179481846C>T]	c.47875+1G>A	-	splice donor variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179480145C>T]	c.48527G>A	p.Trp16176Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179477082G>A]	c.50170C>T	p.Arg16724Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179474001G>GAA]	c.52035_52036insTT	p.Leu17346PhefsTer4	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179473510C>CTTTCT]	c.52223_52227dupAG AAA	p.Asp17410ArgfsTer25	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179470140C>A]	c.53881+1G>T	-	splice donor variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179466192ATCCTGT C>A]	c.55525_55531delGA CAGGA	p.Asp18509SerfsTer29	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179458293A>G]	c.58732+2T>C	-	splice donor variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179455521G>A]	c.60931C>T	p.Arg20311Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179453427G>A]	c.63025C>T	p.Arg21009Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179639647C>A]	c.6790+1G>T	-	splice donor variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179441341G>T]	c.69630C>A	p.Tyr23210Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179436099G>GT]	c.74759_74760insA	p.Ser24921LeufsTer11	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179436091TCCCTGG A>T]	c.74761_74767delTC CAGGG	p.Ser24921ThrfsTer23	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179435609G>A]	c.75250C>T	p.Arg25084Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179432675C>A]	c.78184G>T	p.Glu26062Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179432351CA>C]	c.78507delT	p.Gly26170ValfsTer3	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179429589AAGCATC	c.81262_81269delCA GATGCT	p.Gln27088CysfsTer5	frameshift variant	0	0	-

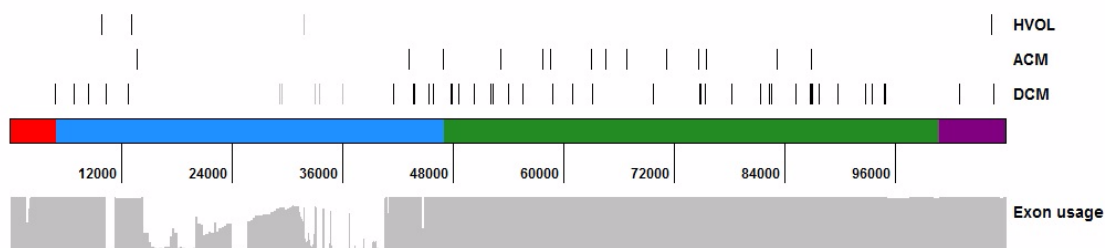
		TG>A]						
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179429538G>C]	c.81321C>G	p.Tyr27107Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179428619G>A]	c.82240C>T	p.Arg27414Ter	stop gained	1.66E-05	0	Ninguno
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179428345AT>A]	c.82513delA	p.Ile27505PhefsTer 20	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179635210GCA>G]	c.8307_8308delTG	p.Ala2770HisfsTer4	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179426738CA>C]	c.84120delT	p.Ser28040ArgfsTer 5	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179425769G>A]	c.85090C>T	p.Arg28364Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179424217TG>T]	c.86641delC	p.His28881ThrfsTer 2	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179424036A>T]	c.86821+2T>A	-	splice donor variant	8.28E-06	0	Ninguno
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179423219C>T]	c.86967G>A	p.Trp28989Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179422272TC>T]	c.87716delG	p.Gly29239AspfsTer 32	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179418515AG>A]	c.89216delC	p.Ala29739ValfsTer 3	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179417876T>TC]	c.89750dupG	p.Val29918SerfsTer 3	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179413670G>A]	c.92683C>T	p.Arg30895Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179412874C>T]	c.93479G>A	p.Trp31160Ter	stop gained	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179411432TGA>T]	c.94721_94722delTC	p.Leu31574GlnfsTer 2	frameshift variant	0	0	-
MCD	<i>TTN</i>	chr2: g.[179411199AATCGGG C>A]	c.94852_94858delGC CCGAT	p.Ala31618TyrfsTer 37	frameshift variant	0	0	-
VS	<i>BAG3</i>	chr10: g.[121429598G>A]	c.416G>A	p.Arg139Gln	missense variant	1.65E-05	0	Ninguno

VS	<i>BAG3</i>	chr10: g.[121431768G>A]	c.509G>A	p.Arg170Gln	missense variant & splice region variant	4.94E-05	8.30E-05	Sas
VS	<i>LMNA</i>	chr1: g.[156106126C>T]	c.1279C>T	p.Arg427Cys	missense variant	4.12E-05	2.00E-05	Nfe
VS	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23894555G>A]	c.2359C>T	p.Arg787Cys	missense variant	5.77E-05	3.90E-05	Nfe
VS	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23894555G>A]	c.2359C>T	p.Arg787Cys	missense variant	5.77E-05	3.90E-05	Nfe
VS	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23890202C>T]	c.3301G>A	p.Gly1101Ser	missense variant	6.59E-05	3.90E-05	Nfe
VS	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23889323C>T]	c.3457G>A	p.Ala1153Thr	missense variant	8.30E-06	0	Ninguno
VS	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23884670A>T]	c.5203T>A	p.Ser1735Thr	missense variant	3.30E-05	2.00E-05	Nfe
VS	<i>MYH7</i>	chr14: g.[23899870T>A]	c.898A>T	p.Met300Leu	missense variant & splice region variant	8.24E-06	0	Ninguno
VS	<i>SCN5A</i>	chr3: g.[38591991G>A]	c.5872C>T	p.Arg1958Ter	stop gained	6.61E-05	7.30E-05	Amr
VS	<i>TTN</i>	chr2: g.[179394786C>A]	c.106432G>T	p.Glu35478Ter	stop gained	0	0	-
VS	<i>TTN</i>	chr2: g.[179604901TG>T]	c.13058delC	p.Pro4353GlnfsTer1 4	frameshift variant	0	0	-
VS	<i>TTN</i>	chr2: g.[179629515G>A]	c.9727C>T	p.Gln3243Ter	stop gained	0	0	-

Filtrado AF pop: Nfe = europeo no finlandés, Sas = Sudasiático, Amr = Americano

No hubo diferencias detectables en el fenotipo o en las variables demográficas entre los casos de MCA con o sin TTNtv (Tablas 20 y 21), con la notable excepción de la historia familiar de miocardiopatía. Durante el seguimiento (seguimiento medio general $5,9 \pm 5,2$ años) el hecho de ser portador de TTNtv no predijo los resultados tras la reducción en el consumo de alcohol y el tratamiento de la insuficiencia cardiaca, con aproximadamente la mitad de todos los casos de MCA que muestran recuperación de la FEVI, independientemente del estatus de TTNtv (Tabla 20), y no hay diferencias detectables en la supervivencia libre de eventos entre los dos grupos (Figura 8).

Figura 7. Distribución de los truncamientos en el gen de la *TTN* identificados en las cohortes de Miocardiopatía dilatada alcohólica, Miocardiopatía dilatada idiopática y voluntarios sanos.



Esquema del gen *TTN* (LRG_391_t1 / ENST00000589042) que muestra los correspondientes dominios de proteínas (en rojo, disco Z; en azul, banda I; en verde, banda A y en morado, banda M) junto con el exón del corazón humano representado como la proporción de empalme (PSI) (rango 0 a 1; barras grises) como se ha descrito en trabajos previos.³⁹ La posición de las variantes TTNtv identificadas en exones expresados de manera constitutiva se muestra para cada una de las cohortes de Miocardiopatía dilatada alcohólica (ACM, N = 141), Miocardiopatía dilatada (DCM, N = 366) y voluntarios sanos (HVOL, N = 445) mediante líneas verticales negras. TTNtv adicionales identificados en exones de baja expresión se indican como barras verticales difuminadas para obtener información.

Tabla 20. Características de casos de MCA con y sin variantes de truncamiento en *TTN*

	TTNtv (n = 14)	Genotipo Negativo (n = 122)	Otras Variantes (n=5)	*Valor p
Alcohol g/día	139,0 ± 68,7	136,0 ± 50,1	122,0 ± 34,6	0.85
Edad en la evaluación clínica inicial, años	49,4 ± 12,9	53,4 ± 9,6	58,8 ± 11,1	0.31
Fracción de eyección inicial del ventrículo izquierdo, %	25,1 ± 10,7	26,5 ± 9,1	30,4 ± 10,5	0.35
Diámetro telediastólico inicial del ventrículo ventricular, mm	63,2 ± 6,6	65,8 ± 9,2	68,4 ± 11,7	0.37
Hombre	13 (92,9)	120 (98,4)	5 (100,0)	0.28
Fibrilación auricular	5 (35,7)	41 (33,6)	3 (60,0)	1.00
Historia familiar de miocardiopatía	6 (42,9)	9 (7,4)	1 (20,0)	0.0012
Historia familiar de muerte súbita cardiaca	1 (7,1)	12 (9,8)	0 (0,0)	1.00
Resultados:	14	120	5	
Seguimiento medio, años	8,3 ± 7,2	5,8 ± 4,9	5,5 ± 4,9	0.26
Muerte o Trasplante	3 (21,4)	19 (15,8)	3 (60,0)	0.96
Estable con recuperación de la FEVI	7 (50,0)	55 (45,8)	0 (0,0)	0.78
Estable sin recuperación de la FEVI	4 (28,6)	46 (38,3)	2 (40,0)	0.57

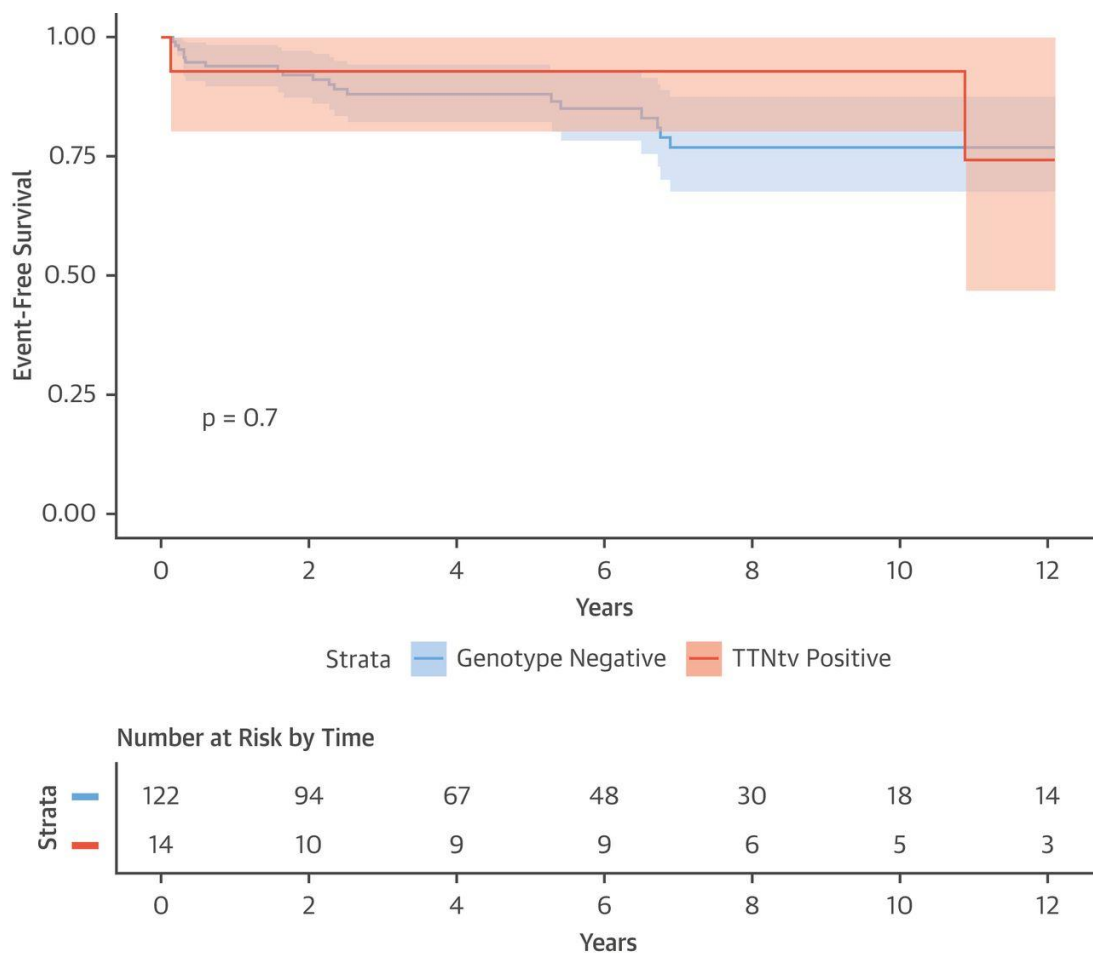
Los valores son media ± desviación estándar, n (%) o n. Edad, fracción de eyección ventricular izquierda (FEVI), diámetro telediastólico ventricular izquierdo y fibrilación auricular, referidas al momento de la evaluación clínica inicial. *Valor de p sin ajustar de TTNtv vs. Genotipo negativo. Prueba U de Mann-Whitney para las variables continuas, prueba exacta de Fisher para las variables categóricas y test de riesgos proporcionales de Cox para supervivencia (muerte o trasplante). TTNtv: Variantes de truncamiento en *TTN*.

Tabla 21. Características clínicas de la cohorte de MCA basadas en el genotipo.

	TTNtv (N=14)	Genotipo Neg (N=122)	Otras Variantes (N=5)	TTNtv (NAs)	Genotipo Neg (NAs)	Otras Variantes (NAs)	*valor P
Clase inicial de la NYHA 1/2/3/4	2/7/5/0	18/59/27/18	1/2/1/1	0	0	0	0.7
Diámetro telediastólico VI inicial - mm	63.2 ± 6.6	65.8 ± 9.2	68.4 ± 11.7	0	5	0	0.37
Diámetro telediastólico VI final - mm	55.9 ± 9.3	58.6 ± 9.5	53.3 ± 2.5	3	18	2	0.44
FEVI inicial - %	25.1 ± 10.7	26.5 ± 9.1	30.4 ± 10.5	0	0	0	0.35
FEVI final - %	41.9 ± 13.6	42.2 ± 14.9	40.2 ± 17.5	0	4	0	0.94
Recuperación de la FEVI - nº (%)	7 (50%)	55 (45.8%)	0 (0%)	0	2	0	0.78
Muerte - nº (%)	1 (7.1%)	8 (6.6%)	2 (40%)	0	0	0	1
Trasplante - nº (%)	2 (14.3%)	11 (9%)	1 (20%)	0	0	0	0.62
Abstemios (última evaluación) - nº (%)	10 (71.4%)	69 (56.6%)	4 (80%)	0	0	0	0.39
Resincronizador - nº (%)	2 (14.3%)	20 (16.4%)	0 (0%)	0	0	0	1
QRS > 120ms - nº (%)	3 (21.4%)	38 (31.4%)	3 (60%)	0	1	0	0.55
DAI - nº (%)	7 (50%)	30 (24.6%)	0 (0%)	0	0	0	0.058
Tabaquismo - nº (%)	4 (28.6%)	55 (45.1%)	2 (40%)	0	0	0	0.27
Hipertensión - nº (%)	4 (28.6%)	67 (54.9%)	1 (20%)	0	0	0	0.089
Dislipemia- nº (%)	6 (42.9%)	50 (41%)	1 (20%)	0	0	0	1
Diabetes mellitus - nº (%)	5 (35.7%)	36 (29.5%)	2 (40%)	0	0	0	0.76
EPOC- nº (%)	3 (21.4%)	33 (27%)	2 (40%)	0	0	0	0.76

*Valores p sin ajustar de TTNtv frente a genotipo negativo (prueba U de Mann-Whitney para variables continuas y clase NYHA; el test exacto de Fisher se usó para las demás variables categóricas). NAs= número de casos faltantes por categoría. FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo. VI: ventrículo izquierdo. DAI: desfibrilador automático implantable, EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

Figura 8. Análisis de supervivencia en los casos de miocardiopatía dilatada alcohólica según el genotipo.



Las curvas de supervivencia muestran la ausencia de end point primario compuesto (muerte por todas las causas o trasplante cardíaco) entre los casos de MCA estratificados por el status genético: TTNtv positivo (casos con una variante de truncamiento en Titina) o TTNtv negativo. La supervivencia libre de eventos se mide desde el momento del diagnóstico. No hay diferencias significativas entre los grupos. Las curvas se comparan usando el test de log-rank. TTNtv= Variante de truncamiento en *TTN*.

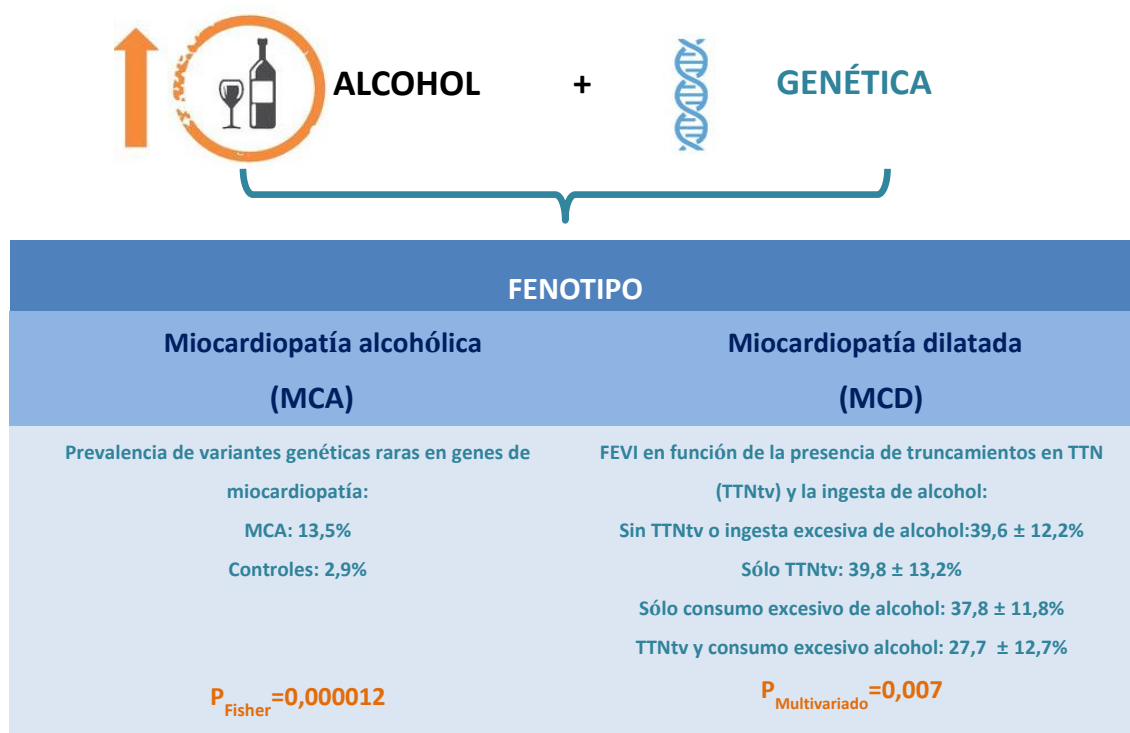
3.5 DISCUSIÓN

Nuestro estudio demuestra que existe una predisposición genética importante en la MCA. Presentamos una gran cohorte de pacientes con MCA genotipados para variantes en nueve genes asociados con MCD familiar, e identificamos variantes raras que alteran la función proteica en 19 de 141 casos de MCA (13,5%), una

frecuencia significativamente superior a la observada en voluntarios sanos (2,9%; $p=0,000012$) y en población control (ExAC, 4,3%; $p=0,0000059$), pero similar a la observada en casos de MCD (19,4%; $p=0,12$) (Figura 9). Nuestros hallazgos demuestran que en un porcentaje de sujetos con MCA, la enfermedad tiene una etiología genética.

Los datos presentados aquí indican que en los pacientes con miocardiopatía relacionada con el alcohol debe realizarse un árbol genealógico de tres generaciones y deben ser considerados para estudio familiar, con exámenes clínicos y pruebas genéticas para identificar a los miembros de la familia en riesgo de desarrollar MCD (como se hace en la práctica actual en los casos de MCD idiopática).

Figura 9. Influencia del alcohol y la situación genética en el fenotipo cardiaco.



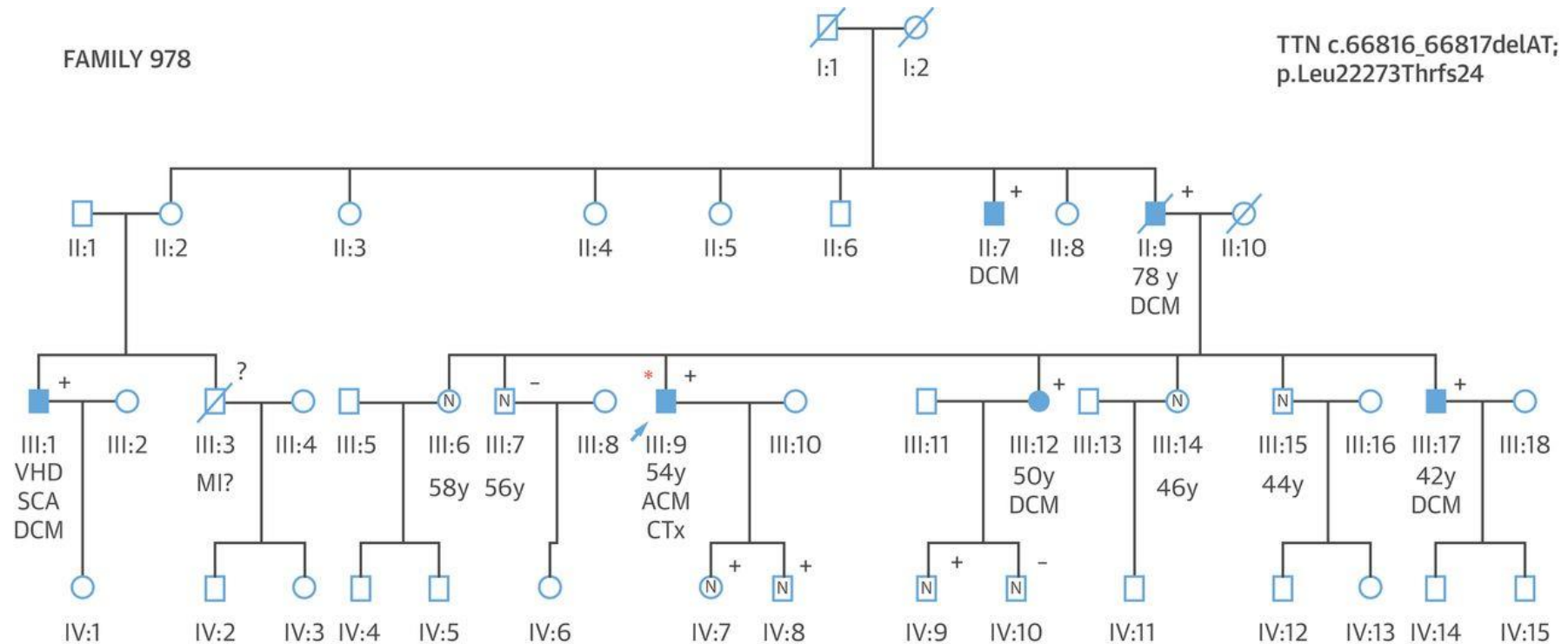
El consumo de alcohol y la genética actúan de forma conjunta para determinar el fenotipo cardiaco. Los pacientes con MCA exhiben una mayor prevalencia de variantes raras en genes asociados con MCD que los sujetos control. En pacientes con MCD, ni la presencia de un TTNtv ni el consumo excesivo de alcohol tienen un efecto significativo en la FEVI basal de forma aislada, pero la combinación se asocia con una FEVI basal significativamente menor. Los valores que se muestran son la fracción de eyección absoluta en cada grupo. El valor p se deriva del análisis multivariado. MCA=Miocardiopatía alcohólica. MCD= Miocardiopatía dilatada. FEVI=Fracción de eyección del Ventrículo izquierdo. TTNtv: Variante de truncamiento en *TTN*.

Una muestra de la utilidad de esta aproximación en la MCA se ilustra en la Figura 10, donde la evaluación familiar identificó a varios individuos con MCD, y las pruebas genéticas permitieron el asesoramiento genético informado, incluido el consejo reproductivo. Esto revela la importancia de reconocer las enfermedades genéticas y de la evaluación familiar, aunque serán necesarios trabajos futuros para una mejor comprensión del riesgo asociado con variantes genéticas encontradas en ausencia de enfermedad familiar manifiesta, para equilibrar los

costes y beneficios asociados al estudio genético y a la vigilancia clínica, y para permitir un consejo genético plenamente informado.

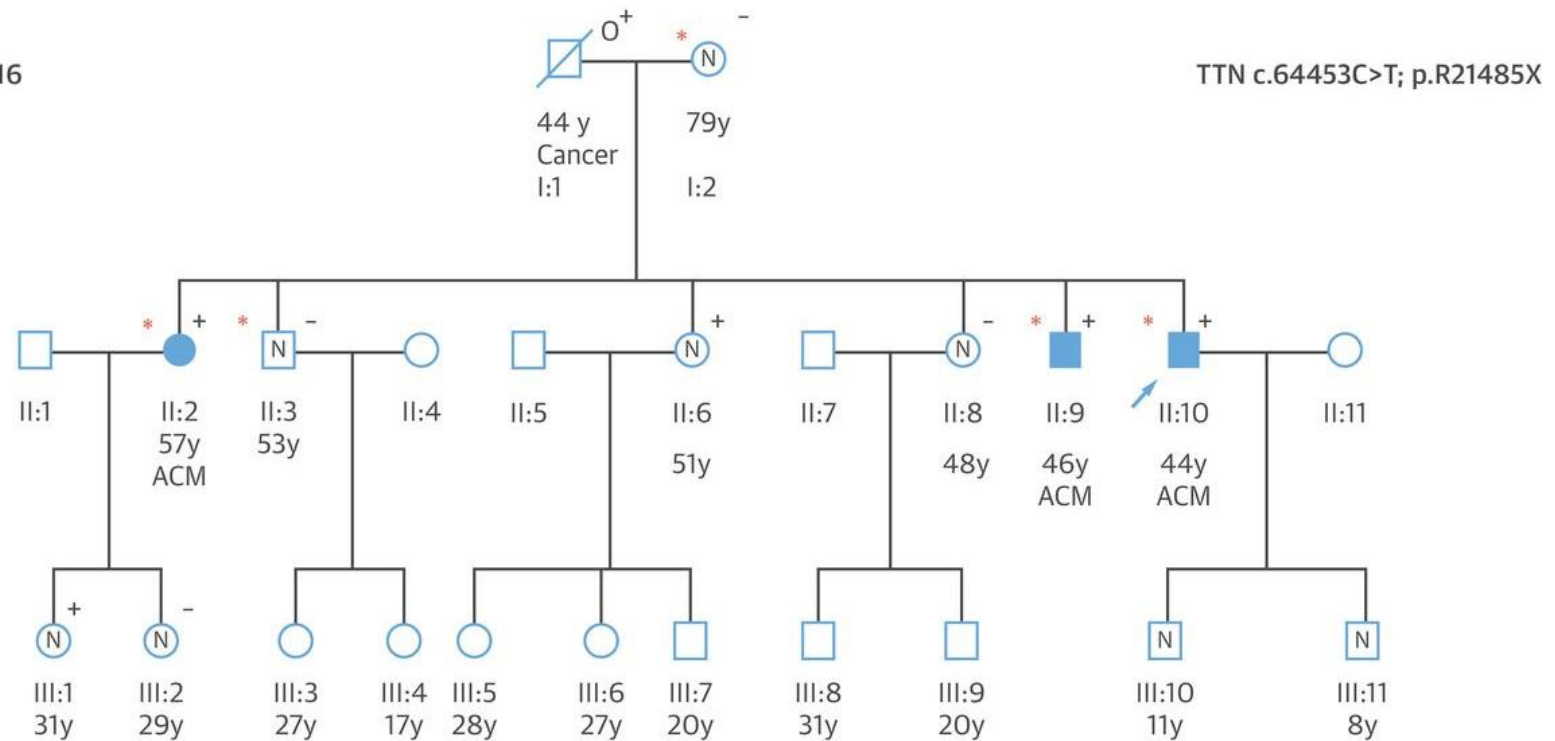
Recientemente se ha demostrado que los TTNtv encontrados en la población general no son fenotípicamente silentes⁸⁹; aunque la prevalencia poblacional de TTNtv excede la prevalencia de MCD, el fenotipado cuidadoso revela diferencias en los volúmenes cardíacos en sujetos con y sin TTNtv. Usando un modelo de rata, se evidenció una función cardíaca en reposo esencialmente normal, pero con anomalías metabólicas subclínicas en portadores de TTNtv y una fisiología cardíaca alterada en condiciones de estrés cardíaco⁸⁹. En conjunto estos datos sugieren que los TTNtv pueden predisponer a la miocardiopatía, con factores ambientales que modifican la penetrancia y la expresividad. En el presente trabajo identificamos una interacción directa entre el TTNtv y el consumo de alcohol en el contexto de MCD típica: los casos con TTNtv y consumo excesivo de alcohol tienen una FEVI marcadamente reducida en comparación con aquellos con baja ingesta de alcohol.

Figura 10. Árboles familiares ilustrativos de la coexistencia entre miocardiopatía dilatada alcohólica e Idiopática y el efecto combinado del consumo excesivo de alcohol y la herencia genética.



Familia 978: Coexistencia de MCA y MCD. El probando (flecha) fue diagnosticado de MCA y recibió un trasplante cardiaco. Cuando se realizó una evaluación familiar genética y clínica se diagnosticó de MCD a varios familiares sin consumo excesivo de alcohol y se descubrió que eran portadores de TTNtv.

FAMILY 1016



Familia 1016: efecto combinado del consumo excesivo de alcohol y variantes genéticas. El probando (flecha) fue diagnosticado con MCA a la edad de 44 años, y se identificó como portador de una variante TTNtv (TTN c.64453C>T; p.R21485X). Un hermano y una hermana con consumo excesivo y prolongado de alcohol (asterisco rojo) y TTNtv también desarrollan MCA. Dos miembros de la familia con TTNtv, pero sin ingesta habitual de alcohol, y otros 2 familiares con consumo excesivo de alcohol pero sin TTNtv no mostraban afectación cardíaca. Se usa la notación de pedigrí estándar: los cuadrados y círculos indican sujetos masculinos y femeninos, respectivamente; una tachadura indica un individuo fallecido, una flecha indica el probando en cada familia y los símbolos rellenos indican individuos afectados con MCA y MCD.

Los símbolos que contienen una N representan individuos confirmados como no afectados. Los símbolos + / - muestran la evaluación genética. + indica portador de TTNtv; - son no portadores. O+ son portadores obligados. Los asteriscos rojos indican casos con consumo excesivo de alcohol prolongado y documentado. CTx=trasplante cardíaco. DCM: Miocardiopatía dilatada. MI=Infarto de miocardio. SCA= Muerte súbita cardíaca. VHD: Enfermedad valvular.

Tomadas en conjunto, estas 2 líneas de evidencia apoyan un modelo por el cual el alcohol y el genotipo cardíaco interactúan, lo que contribuye tanto al desarrollo de MCA como a la gravedad de la enfermedad en el contexto de MCD.

Aunque son muchos los factores que pueden contribuir al desarrollo de MCA, identificamos una familia ilustrativa donde el abuso de alcohol y TTNtv estaban presentes en múltiples parientes, y probablemente actuaban conjuntamente para promover la expresión de la enfermedad en ciertos miembros de la familia. En este pedigrí, los tres individuos afectados eran portadores de TTNtv y reconocieron un consumo prolongado y excesivo de alcohol, mientras que dos individuos que reconocían igualmente el abuso del alcohol pero no tenían TTNtv y tres individuos con TTNtv y sin consumo de alcohol estaban libres de MCD (Figura 10, Familia 1016).

Todavía hay mucho por entender. Los mecanismos moleculares subyacentes en la MCA no se comprenden por completo y el presente trabajo sólo explora algunos de los factores genéticos que pueden influir en la susceptibilidad a la miocardiopatía en la exposición al alcohol. Aunque existe una fuerte evidencia de la interacción entre alcohol y TTNtv, hay mucho más por aprender sobre el mecanismo subyacente en la penetrancia variable de TTNtv. En algunas familias con MCD, los TTNtv parecen altamente penetrantes y suficientes para causar enfermedad por sí mismos, pero también se observan TTNtv en aproximadamente el 1% de la población general³⁹, una proporción muy superior a la prevalencia de MCD, y sugieren que otros factores genéticos o ambientales contribuyen al desarrollo de la miocardiopatía⁴¹.

El efecto del alcohol en la aparición de la MCD es también difícil de evaluar, pero los estudios previos sugieren que podría estar involucrado hasta en el 47% de los casos⁴³, y un estudio poblacional reciente realizado en > 1,9 millones de individuos de Reino Unido mostró que un 8,4% reconocía beber por encima de los niveles seguros recomendados⁹⁹.

Factores ambientales adicionales que pueden actuar en concierto con TTNtv incluyen miocarditis viral¹⁰⁰, deficiencias nutricionales¹⁰¹, uso de drogas recreacionales¹⁰² y ciertos medicamentos cardiotóxicos¹⁰³. Por lo tanto nuestros datos también tienen implicaciones potenciales más amplias tanto para las elecciones de estilo de vida como para explorar la interacción potencial de la genética con otros factores ambientales.

La MCA tiene mal pronóstico, aunque algo mejor que el de la MCD general^{48, 63}. En la cohorte de MCA estudiada aquí, de los 139 casos con datos finales, 62 (44,6%) mostraron recuperación funcional después de recibir tratamiento para la insuficiencia cardíaca y reducir la ingesta de alcohol, 52 (37,4%) permanecieron estables pero sin recuperación funcional, y 25 (17,9%) murieron o recibieron un trasplante cardíaco, de acuerdo a lo reportado en estudios recientes^{63, 64}. No encontramos ninguna diferencia entre los casos con y sin TTNtv con respecto al resultado en la FEVI, con porcentajes similares en cuanto a la mejoría de la función cardíaca (50% frente a 45,8%, respectivamente) (Tabla 20), lo que indica que la presencia de un TTNtv no impide por sí misma la recuperación. La recuperación funcional en MCD producida por TTNtv ha sido previamente reportada en casos de insuficiencia cardíaca severa terminal, que requiere un dispositivo de asistencia ventricular¹⁰⁴, como en casos más leves después del tratamiento médico¹⁰⁵. Del

mismo modo, no encontramos diferencias en el análisis de supervivencia (ausencia de muerte o trasplante cardíaco) entre los grupos TTNtv+ y TTNtv-.

3.6 LIMITACIONES

En primer lugar podría postularse que los individuos en los que coinciden MCA y TTNtv simplemente representan MCD familiar convencional: dado que el consumo prolongado y excesivo de alcohol no es infrecuente en la población, una proporción de casos de MCD estarán expuestos a él; así TTNtv sería el agente causal, y el consumo de alcohol un espectador casual. Sin embargo, la respuesta cardíaca positiva a la reducción o el cese del consumo alcohólico apunta al papel etiológico del alcohol en el proceso de la enfermedad, y la interacción sinérgica observada en los trabajos de nuestro grupo entre la predisposición genética y la toxicidad ambiental en la cohorte de MCD apunta, una vez más a una interacción biológica.

En segundo lugar, es conveniente destacar que aunque la asociación entre la agregación de variantes raras en este grupo de genes y la MCA puede interpretarse de forma sólida como la demostración de un papel etiológico, la interpretación de variantes específicas en pacientes individuales a menudo sigue siendo difícil. La mejora en la interpretación clínica mejoraría sustancialmente la utilidad clínica de las pruebas genéticas en las miocardiopatías. Nosotros hemos restringido el análisis a genes de MCD fuertemente validados con un exceso de variantes raras publicadas en MCD comparados con sujetos control. Reconocemos que variantes raras en otros genes que podrían jugar un papel en la MCD pueden suponer una contribución adicional a la predisposición genética de la MCA.

Finalmente, el consumo de alcohol informado por el propio paciente carece de precisión y está probablemente infraestimado, lo que junto a un tamaño de cohorte

modesto, limita nuestro poder para detectar efectos de menor tamaño sobre el fenotipo y los resultados clínicos finales, para evaluar la contribución de genes que tienen variantes genéticas de forma más infrecuente y para desentrañar las interacciones entre genética e influencias ambientales.

Capítulo 4:
CONCLUSIONES

CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de hipercolesterolemia familiar confirmada genéticamente en pacientes con síndrome coronario agudo menores de 65 años y con un nivel del LDL-colesterol superior a 160 mg/dl es de aproximadamente el 9%.
2. Los algoritmos clínicos usados habitualmente para el diagnóstico de la hipercolesterolemia familiar no identifican con precisión a los pacientes afectados en este contexto, con un número sustancial de pacientes con hipercolesterolemia familiar confirmada genéticamente sin identificar mediante los criterios clínicos, a la vez que numerosos individuos diagnosticados mediante criterios clínicos que no presentan mutaciones para esta enfermedad.
3. Las pruebas genéticas deben recomendarse en pacientes jóvenes con síndrome coronario agudo y niveles elevados de LDL-colesterol para permitir el diagnóstico precoz de los pacientes con hipercolesterolemia familiar y sus familiares en situación de riesgo.
4. Existe un componente genético predisponente en la patogénesis de la miocardiopatía dilatada alcohólica.
5. Nuestros datos apoyan un modelo en el cual el alcohol y otros factores ambientales interactúan con el genotipo para determinar el fenotipo cardíaco.
6. Debe considerarse la realización de estudio familiar y pruebas genéticas en pacientes con miocardiopatía dilatada alcohólica.

Capítulo 5:

ANEXOS

CAPÍTULO 5. ANEXOS

Anexo 1. Análisis de datos de variantes del estudio: “Hipercolesterolemia familiar confirmada genéticamente en pacientes con síndrome coronario agudo”

Los archivos FASTQ fueron procesados en una aplicación propia desarrollada por Gendiag.exe e implementada con el software Gendicall (herramienta informática desarrollada por Gendiag.exe). El análisis de datos incluyó un primer paso de eliminación de adaptadores y bases de baja calidad; después, las lecturas resultantes se mapearon con BWA-MEM¹⁰⁶. Las duplicaciones se eliminaron mediante Picard¹⁰⁷ y el archivo BAM resultante se utilizó para la anotación de variantes realizadas con una combinación de SAMtools v 1.2¹⁰⁸ y scripts privados. Además se aplicaron algoritmos internos para detectar puntos de ruptura y CNVs. La anotación de variantes se basó en los estándares de la Human Genome Variation Society (HGVS)¹⁰⁹ utilizando isoformas de Ensemble y considerando la información contenida en las bases de datos públicas¹¹⁰, la versión 3 de 1000 Genomas¹¹¹ (<http://www.1000genomes.org/>) y la versión 0.3 del Exome Aggregation Consortium (ExAC)¹¹² (<http://exac.broadinstitute.org>) y el Exome Variant Server¹¹³.

Anexo 2. Análisis de datos de variantes del estudio: “Una etiología genética para la toxicidad cardiaca inducida por el alcohol”

Secuenciación NGS

Las muestras de ADN en este estudio se secuenciaron usando el kit Illumina TruSight Cardio Sequencing (que incluye 174 genes asociados con enfermedades cardíacas hereditarias⁹⁰, en la plataforma Illumina NextSeq, o utilizando un panel Agilent SureSelect personalizado con contenido similar y secuenciado en la plataforma Life Technologies SOLiD 5500x1, tal como se ha descrito previamente³⁹.

Las bibliotecas de ADN fueron preparadas con el kit TruSight Cardio (Illumina) y se secuenciaron con lecturas de 150 pares de bases en la plataforma NextSeq v2 (Illumina). El análisis de los datos de secuenciación se realizó con el software NextSeq Control o Bcl2FastQ conversion 2.16^{114, 115} y los archivos FastQ resultantes sujetos al control de calidad con FastQC¹¹⁶ v.0.10.14. Las lecturas de baja calidad (Q<20, tamaño de ventana 5) se eliminaron usando PrinSeq¹¹⁷ v0.20.4, y las secuencias se alinearon con el genoma de referencia HG19 utilizando BWA¹⁰⁶ v0.7.10. Picard¹¹⁸ v1.115 y GATK9¹¹⁹ v3.2-2 se usaron para marcar lecturas duplicadas y realizar una realineación local en torno a indels y recalibración basal. Las bases cubiertas por al menos 10 lecturas, con una calidad de correlación ≥ 10 y calidad de base ≥ 20 se denominaron como “invocables”, es decir, cubiertas adecuadamente para la anotación de variantes con los parámetros GATK recomendados. La anotación de variantes se realizó conjuntamente con GATK HaplotypeCaller.

Para las muestras analizadas utilizando SOLiD5500XL, las bibliotecas de ADN se prepararon de acuerdo con los protocolos de los fabricantes antes de realizar la secuenciación por pares. Las lecturas de SOLiD se alinearon en el espacio de color utilizando el *pipeline* LifeScope™ v2.5.1 “Targeted re-sequencing”¹²⁰. La Herramienta SOLiD Accuracy Enhancement Tool (SAET) se utilizó para mejorar la precisión de las anotaciones de color antes del mapeo. Las variantes fueron anotadas por los paquetes diBayes y SmallIndel, en el software LifeScope, así como por GATK UnifiedGenotyper. Las bases cubiertas por al menos 10 lecturas con una calidad de mapeo ≥ 10 y calidad de base ≥ 20 se designaron como “invocables”.

Para todas las muestras, las variantes fueron anotadas con Variant Effect Predictor (VEP)¹²¹ y de acuerdo con transcripciones definidas para cada gen (Tabla 16) con variantes de truncamiento definidas como aquellas que dan como resultado mutaciones sin sentido (nonsense), frameshift o mutaciones en sitios esenciales de empalme (consecuencias de VEP: variante frameshift, stop gained, variantesceptoras y donadoras de splicing) y variantes no truncadas, definidas como las que dan como resultado variantes missense, delecciones e inserciones dentro el marco de lectura. Los casos utilizados en los test de carga se emparejaron por etnia: se seleccionaron aquellos autoinformados como raza caucásica y confirmados por análisis de componentes principales (PCA), analizados utilizando PLINK v1.9 y HapMap3 como conjunto de datos de referencia. Todas las muestras que resultaron fuera del grupo caucásico se eliminaron de un análisis posterior.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA:

1. Hershberger RE. Cardiovascular genetic medicine: evolving concepts, rationale, and implementation. *J Cardiovasc Transl Res*. 2008;1(2):137-43.
2. Pollex RL, Hegele RA. Copy number variation in the human genome and its implications for cardiovascular disease. *Circulation*. 2007;115(24):3130-8.
3. Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. *Journal of Clinical Investigation*. 2003;111(12):1795-803.
4. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *European Heart Journal*. 2016;37(39):2999-3058.
5. Henderson R, O’Kane M, McGilligan V, Watterson S. The genetics and screening of familial hypercholesterolaemia. *Journal of Biomedical Science*. 2016;23(39).
6. Akioyamen L, Genest J, Shan S, Reel R, Albaum J, Chu A, et al. Estimating the prevalence of heterozygous familial hypercholesterolaemia: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2017;7.
7. Besseling J, Kindt I, Hof M, Kastelein JJ, Hutten BA, Hovingh GK. Severe heterozygous familial hypercholesterolemia and risk for cardiovascular disease: a study of a cohort of 14,000 mutation carriers. *Atherosclerosis*. 2014;233(1):219-23.
8. Cuchel M, Bruckert E, Ginsberg HN, Raal FJ, Santos RD, Hegele RA, et al. Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society. *European Heart Journal*. 2014;35(32):2146-57.
9. Civeira F, International Panel on Management of Familial H. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2004;173(1):55-68.
10. Williams RR, Hunt SC, Schumacher C, Hegele RA, Leppert MF, Ludwig EH, et al. Diagnosing heterozygous Familial Hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol*. 1993;72(2):171-6.
11. Austin M, Hutter C, Zimmern R, Humphries SE. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. *Am J Epidemiol*. 2004;160(5):407-20.

12. Martin R, Latten M, Hart P, Murray H, Bailie DA, Crockard M, et al. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolaemia using a rapid biochip array assay for 40 common LDLR, APOB and PCSK9 mutations. *Atherosclerosis*. 2016;254:8-13.
13. Maglio C, Mancina RM, Motta BM, Stef M, Pirazzi C, Palacios L, et al. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolaemia by targeted next-generation sequencing. *J Intern Med*. 2014;276(4):396-403.
14. Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Mutations causative of familial hypercholesterolaemia: screening of 98 098 individuals from the Copenhagen General Population Study estimated a prevalence of 1 in 217. *Eur Heart J*. 2016;37(17):1384-94.
15. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J*. 2013;34(45):3478-90a.
16. Wiegman A, Gidding SS, Watts GF, Chapman MJ, Ginsberg HN, Cuchel M, et al. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: gaining decades of life by optimizing detection and treatment. *Eur Heart J*. 2015;36(36):2425-37.
17. Wang A, Richhariya A, Gandra SR, Calimlim B, Kim L, Quek RGW, et al. Systematic Review of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Apheresis for the Treatment of Familial Hypercholesterolemia. *Journal of the American Heart Association*. 2016;5(7):e003294.
18. Sudhop T. Inhibition of Intestinal Cholesterol Absorption by Ezetimibe in Humans. *Circulation*. 2002;106(15):1943-8.
19. Robinson JG, Farnier M, Krempf M, Bergeron J, Luc G, Averna M, et al. Efficacy and Safety of Alirocumab in Reducing Lipids and Cardiovascular Events. *New England Journal of Medicine*. 2015;372(16):1489-99.
20. Sabatine MS, Giugliano RP, Wiviott SD, Raal FJ, Blom DJ, Robinson J, et al. Efficacy and Safety of Evolocumab in Reducing Lipids and Cardiovascular Events. *New England Journal of Medicine*. 2015;372(16):1500-9.
21. Saltijeral A, Pérez de Isla L, Alonso R, Muñiz O, Díaz-Díaz JL, Fuentes F, et al. Consecución de objetivos terapéuticos de colesterol LDL en niños y adolescentes con hipercolesterolemia familiar. Registro longitudinal SAFEHEART. *Revista Española de Cardiología*. 2017;70(6):444-50.
22. Harada-Shiba M, Arai H, Oikawa S, Ohta T, Okada T, Okamura T, et al. Guidelines for the management of Familial Hypercholesterolemia. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 2012;19(12):1043-60.

23. Report of the WHO/ISFC task force on the definition and classification of cardiomyopathies. *Br Heart J*. 1980;44(6):672-3.
24. Richardson P, McKenna WJ, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, et al. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of Cardiomyopathies. *Circulation*. 1996;93(5):841-2.
25. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2006;113(14):1807-16.
26. Elliott P, Andersson B, Arbustini E, Bilinska Z, Cecchi F, Charron P, et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2008;29(2):270-6.
27. Arbustini E, Narula N, Tavazzi L, Serio A, Grasso M, Favalli V, et al. The MOGE(S) classification of cardiomyopathy for clinicians. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(3):304-18.
28. Hershberger RE, Hedges DJ, Morales A. Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture. *Nat Rev Cardiol*. 2013;10(9):531-47.
29. Sugrue DD, Rodeheffer RJ, Codd MB, Ballard DJ, Fuster V, Gersh BJ. The clinical course of idiopathic Dilated Cardiomyopathy: A population-based study. *Annals of Internal Medicine*. 1992;117(2):117-23.
30. Sisakian H. Cardiomyopathies: Evolution of pathogenesis concepts and potential for new therapies. *World J Cardiol*. 2014;6(6):478-94.
31. Lund LH, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Benden C, Christie JD, Dipchand AI, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-first Official Adult Heart Transplant Report—2014; Focus Theme: Retransplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2014;33(10):996-1008.
32. Japp AG, Gulati A, Cook SA, Cowie MR, Prasad SK. The Diagnosis and Evaluation of Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2016;67(25):2996-3010.
33. McMurray JJV, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012. *European Journal of Heart Failure*. 2012;14(8):803-69.

34. Pinto YM, Elliott PM, Arbustini E, Adler Y, Anastasakis A, Böhm M, et al. Proposal for a revised definition of dilated cardiomyopathy, hypokinetic non-dilated cardiomyopathy, and its implications for clinical practice: a position statement of the ESC working group on myocardial and pericardial diseases. *European Heart Journal*. 2016;37(23):1850-8.
35. Burkett EL, Hershberger RE. Clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(7):969-81.
36. Haas J, Frese KS, Peil B, Kloos W, Keller A, Nietsch R, et al. Atlas of the clinical genetics of human dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2015;36(18):1123-35a.
37. García-Pavía P, Cobo-Marcos M, Guzzo-Merello G, Gómez-Bueno M, Bornstein B, Lara-Pezzi E, et al. Genetics in dilated cardiomyopathy. *Biomark Med*. 2013;7(4):517-33.
38. Herman D, L L, MRG T, L W, P T, D C, et al. Truncations of titin causing dilated Cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2012;366:619-28.
39. Roberts AM, Ware JS, Herman DS, Schafer S, Baksi J, Bick AG, et al. Integrated allelic, transcriptional, and phenomic dissection of the cardiac effects of titin truncations in health and disease. *Sci Transl Med*. 2015;7(270):270ra6.
40. Ware JS, Li J, Mazaika E, Yasso CM, DeSouza T, Cappola TP, et al. Shared Genetic Predisposition in Peripartum and Dilated Cardiomyopathies. *N Engl J Med*. 2016;374(3):233-41.
41. Ware JS, Cook SA. Role of titin in cardiomyopathy: from DNA variants to patient stratification. *Nat Rev Cardiol*. 2018;15(4):241-52.
42. Piano MR. Alcoholic cardiomyopathy: incidence, clinical characteristics and pathophysiology. *Chest*. 2002;121(5):1638-50.
43. Guzzo-Merello G, Cobo-Marcos M, Gallego-Delgado M, Garcia-Pavia P. Alcoholic cardiomyopathy. *World J Cardiol*. 2014;6(8):771-81.
44. Maisch B. Alcoholic cardiomyopathy : The result of dosage and individual predisposition. *Herz*. 2016;41(6):484-93.
45. Münzinger W. Das Tübinger Herz. Ein Beitrag zur Lehre von der Überanstrengung de Herzens. *Dtsch Arch Klin Med* 1877;19:449.
46. Urbano-Márquez Á, Estruch R, Navarro-López F, Grau JM, Mont L, Rubin E. The effects of alcoholism on skeletal and cardiac muscle. *The New England Journal of Medicine*. 1989;320(7):409-15.

47. Kupari M, Koskinen P, Soukas A. Left ventricular size, mass and function in relation to the duration and quantity of heavy drinking in alcoholics. *The American Journal of Cardiology*. 1991;67(4):274-9.
48. Fernandez-Sola J. Cardiovascular risks and benefits of moderate and heavy alcohol consumption. *Nat Rev Cardiol*. 2015;12(10):576-87.
49. O'Keefe JH, Bhatti SK, Bajwa A, DiNicolantonio JJ, Lavie CJ. Alcohol and cardiovascular health: the dose makes the poison...or the remedy. *Mayo Clin Proc*. 2014;89(3):382-93.
50. Waszkiewicz N, Szulc A, Zwierz K. Binge drinking-induced subtle myocardial injury. *Alcohol Clin Exp Res*. 2013;37(8):1261-3.
51. Beckemeier M, Bora P. Fatty acid ethyl esters: potentially toxic products of myocardial ethanol metabolism. *J Mol Cell Cardiol*. 1998;30(11):2487-94.
52. Laonigro I, Correale M, Di Biase M, Altomare E. Alcohol abuse and heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2009;11(5):453-62.
53. George A, Figueredo VM. Alcoholic Cardiomyopathy: A Review. *Journal of Cardiac Failure*. 2011;17(10):844-9.
54. Fernández-Solá J, Estruch R, Nicolás J, Paré J, Sacanella E, Antúnez E, et al. Comparison of alcoholic cardiomyopathy in women versus men. *Am J Cardiol*. 1997;80(4):481-5.
55. McDonald C, Burch G, Walsh J. Alcoholic Cardiomyopathy managed with prolonged bed rest. *Annals of Internal Medicine*. 1971;74(5):681-91.
56. Demakis J, Proskey A, Rahimtoola S, Jamil M, Sutton G, Rosen K, et al. The natural course of Alcoholic Cardiomyopathy. *Annals of Internal Medicine*. 1974;80(3):293-7.
57. Haissaguerre M, Fleury B, Gueguen A, Bonnet J, Lorente P, Nakache J, et al. (Mortality of dilated myocardiopathies as a function of continuation of alcohol drinking. Multivariate analysis concerning 236 patients). *Presse Med*. 1989;18(14):711-4.
58. Teragaki M, Takeuchi K, Takeda T. Clinical and histologic features of alcohol drinkers with congestive heart failure. *Am Heart J*. 1993;125(3):808-17.
59. Prazak P, Pfisterer M, Osswald S, Buser P, Burkat F. Differences of disease progression in congestive heart failure due to alcoholic as compared to idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 1996;17(2):251-7.
60. Guillo P, Mansourati J, Maheu B, Etienne Y, Provost K, Simon O, et al. Long-term prognosis in patients with alcoholic cardiomyopathy and severe heart failure after total abstinence. *Am J Cardiol*. 1997;79(9):1276-8.

61. Fauchier L, Babuty D, Poret P, Casset-Senon D, Autret M, Cosnay P, et al. Comparison of long-term outcome of alcoholic and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2000;21(4):306-14.
62. Gavazzi A, De Maria R, Parolini M, Porcu M. Alcohol abuse and dilated cardiomyopathy in men. *The American Journal of Cardiology*. 2000;85(9):1114-8.
63. Guzzo-Merello G, Segovia J, Dominguez F, Cobo-Marcos M, Gomez-Bueno M, Avellana P, et al. Natural History and Prognostic Factors in Alcoholic Cardiomyopathy. *JACC: Heart Failure*. 2015;3(1):78-86.
64. Amor-Salamanca A, Guzzo-Merello G, González-López E, Domínguez F, Restrepo-Córdoba A, Cobo-Marcos M, et al. Impacto pronóstico y factores predictores de la recuperación de la fracción de eyección en pacientes con miocardiopatía dilatada alcohólica. *Revista Española de Cardiología*. 2018.
65. Fernandez-Sola J. Reversibilidad de la miocardiopatía dilatada alcohólica. *Revista Española de Cardiología*. 2018.
66. Nicolás J, Fernandez-Sola J, Estruch R, Paré J, Sacanella E, Urbano-Márquez Á, et al. The effect of controlled drinking in alcoholic cardiomyopathy. *Ann Intern Med*. 2002;136:192-200.
67. Addolorato G, Mirijello A, Barrio P, Gual A. Treatment of alcohol use disorders in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol*. 2016;65(3):618-30.
68. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Heart Journal*. 2016;37(27):2129-200.
69. Jones PK, S. Laurora, I. Hunninghake, D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study). *Am J Cardiol*. 1998;81(5):582-7.
70. Masana L, Ibarretxe D, Plana N. Maximum low-density lipoprotein cholesterol lowering capacity achievable with drug combinations. When 50 plus 20 equals 60. *Rev Esp Cardiol*. 2016;69(3):342-3.
71. Friedewald WL, RL.; Fredrickson, DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18:499-502.
72. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-24.

73. Khera AV, Won HH, Peloso GM, Lawson KS, Bartz TM, Deng X, et al. Diagnostic Yield and Clinical Utility of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Patients With Severe Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2016;67(22):2578-89.
74. Wald DS, Bestwick JP, Morris JK, Whyte K, Jenkins L, Wald NJ. Child-Parent Familial Hypercholesterolemia Screening in Primary Care. *N Engl J Med*. 2016;375(17):1628-37.
75. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J*. 2016;37(29):2315-81.
76. Hopkins PN, Lane SR. Genotype-guided diagnosis in familial hypercholesterolemia: clinical management and concerns. *Curr Opin Lipidol*. 2017;28(2):144-51.
77. Klančar G, Grošelj U, Kovač J, Bratanič N, Bratina N, Trebušak Podkrajšek K, et al. Universal Screening for Familial Hypercholesterolemia in Children. *Journal of the American College of Cardiology*. 2015;66(11):1250-7.
78. Wald DS, Bangash FA, Bestwick JP. Prevalence of DNA-confirmed familial hypercholesterolaemia in young patients with myocardial infarction. *European Journal of Internal Medicine*. 2015;26(2):127-30.
79. De Backer G, Besseling J, Chapman J, Hovingh GK, Kastelein JJP, Kotseva K, et al. Prevalence and management of familial hypercholesterolaemia in coronary patients: An analysis of EUROASPIRE IV, a study of the European Society of Cardiology. *Atherosclerosis*. 2015;241(1):169-75.
80. Nanchen D, Gencer B, Auer R, Raber L, Stefanini GG, Klingenberg R, et al. Prevalence and management of familial hypercholesterolaemia in patients with acute coronary syndromes. *Eur Heart J*. 2015;36(36):2438-45.
81. Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Mutations causative of familial hypercholesterolaemia: screening of 98 098 individuals from the Copenhagen General Population Study estimated a prevalence of 1 in 217. *European Heart Journal*. 2016;37(17):1384-94.
82. Abul-Husn NS, Manickam K, Jones LK, Wright EA, Hartzel DN, Gonzaga-Jauregui C, et al. Genetic identification of familial hypercholesterolemia within a single U.S. health care system. *Science*. 2016;354(6319):aaf7000.
83. Kindt I, Mata P, Knowles JW. The role of registries and genetic databases in familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol*. 2017;28(2):152-60.

84. Nherera L, Marks D, Minhas R, Thorogood M, Humphries SE. Probabilistic cost-effectiveness analysis of cascade screening for familial hypercholesterolaemia using alternative diagnostic and identification strategies. *Heart*. 2011;97(14):1175-81.
85. Nanchen D, Gencer B, Muller O, Auer R, Aghlmandi S, Heg D, et al. Prognosis of Patients With Familial Hypercholesterolemia After Acute Coronary Syndromes. *Circulation*. 2016;134(10):698-709.
86. Pijlman AH, Huijgen R, Verhagen SN, Imholz BP, Liem AH, Kastelein JJ, et al. Evaluation of cholesterol lowering treatment of patients with familial hypercholesterolemia: a large cross-sectional study in The Netherlands. *Atherosclerosis*. 2010;209(1):189-94.
87. Tayal U, Newsome S, Buchan R, Whiffin N, Halliday B, Lota A, et al. Phenotype and Clinical Outcomes of Titin Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70(18):2264-74.
88. Maceira AM PS, Khan M, Pennell DJ. . Normalized left ventricular systolic and diastolic function by seteady state free precession cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2006;8:417-26.
89. Schafer S, de Marvao A, Adami E, Fiedler LR, Ng B, Khin E, et al. Titin-truncating variants affect heart function in disease cohorts and the general population. *Nat Genet*. 2017;49(1):46-53.
90. Pua CJ, Bhalshankar J, Miao K, Walsh R, John S, Lim S, et al. Development of a comprehensive sequencing assay for inherited cardiac condition genes. *J of Cardiovasc Transl Res* 2016;9:3-11.
91. Whiffin N, Minikel E, Walsh R, O'Donnell-Luria AH, Karczewski K, Ing AY, et al. Using high-resolution variant frequencies to empower clinical genome interpretation. *Genet Med*. 2017;19(10):1151-8.
92. Walsh R, Thomson KL, Ware JS, Funke BH, Woodley J, McGuire KJ, et al. Reassessment of Mendelian gene pathogenicity using 7,855 cardiomyopathy cases and 60,706 reference samples. *Genet Med*. 2017;19(2):192-203.
93. Villard E, Perret C, Gary F, Proust C, Dilanian G, Hengstenberg C, et al. A genome-wide association study identifies two loci associated with heart failure due to dilated cardiomyopathy. *European Heart Journal*. 2011;32(9):1065-76.
94. Pugh TJ, Kelly MA, Gowrisankar S, Hynes E, Seidman MA, Baxter SM, et al. The landscape of genetic variation in dilated cardiomyopathy as surveyed by clinical DNA sequencing. *Genet Med*. 2014;16(8):601-8.
95. Tayal U, Prasad SK, Cook SA. Genetics and genomics of dilated cardiomyopathy and systolic heart failure. *Genome Med*. 2017;9:20.

96. ImperialCardioGenetics/ACM. Available at: <https://github.com/ImperialCardioGenetics/ACM>. Accessed April 15, 2018.
97. Chami N, Tadros R, Lemarbre F, Lo KS, Beaudoin M, Robb L, et al. Nonsense Mutations in BAG3 are Associated With Early-Onset Dilated Cardiomyopathy in French Canadians. *Canadian Journal of Cardiology*. 2014;30(12):1655-61.
98. Whiffin N, Walsh R, Govind R, Edwards M, Ahmad M, Zhang X, et al. CardioClassifier: disease- and gene-specific computational decision support for clinical genome interpretation. *GENETICS in MEDICINE*. 2018.
99. Bell S, Daskalopoulou M, Rapsomaniki E, George J, Britton A, Bobak M, et al. Association between clinically recorded alcohol consumption and initial presentation of 12 cardiovascular diseases: population based cohort study using linked health records. *BMJ*. 2017;356:j909.
100. Belkaya S, Kontorovich AR, Byun M, Mulero-Navarro S, Bajolle F, Cobat A, et al. Autosomal Recessive Cardiomyopathy Presenting as Acute Myocarditis. *J Am Coll Cardiol*. 2017;69(13):1653-65.
101. Marinescu V, McCullough P. Nutritional and micronutrient determinants of idiopathic dilated cardiomyopathy: diagnostic and therapeutic implications. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2011;9:1161-70.
102. Frustaci A, Russo MA, Morgante E, Scopelliti F, Aquilano K, Ciriolo MR, et al. Oxidative myocardial damage in human cocaine-related cardiomyopathy. *European Journal of Heart Failure*. 2015;17(3):283-90.
103. Chang H, Okwuosa T, Scarabelli T, Moudgil R, Yeh E. Cardiovascular complications of Cancer therapy: Best practices in diagnosis, prevention, and management: Part 2. *JACC* 2017;70(20):2552-65.
104. Felkin LE, Walsh R, Ware JS, Yacoub MH, Birks EJ, Barton PJ, et al. Recovery of cardiac function in cardiomyopathy caused by titin truncation. *JAMA Cardiol*. 2016;1:234-5.
105. Jansweijer JA, Nieuwhof K, Russo F, Hoorntje ET, Jongbloed JD, Lekanne Deprez RH, et al. Truncating titin mutations are associated with a mild and treatable form of dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2017;19(4):512-21.
106. Li H, Durbin R. Fast and accurate long-read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*. 2010;26(5):589-95.
107. <http://broadinstitute.github.io/picard>.
108. Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, et al. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics*. 2009;25(16):2078-9.

109. den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J, et al. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat.* 2016;37(6):564-9.
110. Sherry S, Ward M, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski M, et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acid Research.* 2001;29(1):308-11.
111. Genomes Project C, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, et al. A global reference for human genetic variation. *Nature.* 2015;526(7571):68-74.
112. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature.* 2016;536(7616):285-91.
113. Exome Variant Server. NHLBI Exome Sequencing Project (ESP), Seattle, WA (URL:<http://evs.gs.sashington.edu/EVS/>).
114. http://supportillumina.com/sequencing/sequencing_software/miseq_reporter/downloadsilmn.
115. http://supportillumina.com/sequencing/sequencing_instruments/miseq/downloadsilmn
116. <http://wwwbioinformaticsbabrahamacuk/projects/fastqc/>.
117. Schmieder R, Edwards R. Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. *Bioinformatics.* 2011;27(6):863-4.
118. <http://picard.sourceforge.net>
119. McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytsky A, et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res.* 2010;20(9):1297-303.
120. <http://wwwlifetechnologiescom/us/en/home/technical-resources/software-downloads/lifescop-genomic-analysis-softwarehtml>.
121. McLaren W, Gil L, Hunt S, Riat H, Ritchie G, Thormann A, et al. The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biology.* 2016;17(1).

ARTÍCULOS PUBLICADOS



Genetically Confirmed Familial Hypercholesterolemia in Patients With Acute Coronary Syndrome

Almudena Amor-Salamanca, MD,^a Sergio Castillo, PhD,^b Emiliano Gonzalez-Vioque, PhD,^c
Fernando Dominguez, MD,^{a,d} Lucía Quintana, PhD,^b Carla Lluís-Ganella, PhD,^b Juan Manuel Escudier, MD,^a
Javier Ortega, MD,^a Enrique Lara-Pezzi, PhD,^{d,e} Luis Alonso-Pulpon, MD, PhD,^{a,d} Pablo Garcia-Pavia, MD, PhD^{a,d,f}

ABSTRACT

BACKGROUND Genetic screening programs in unselected individuals with increased levels of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) have shown modest results in identifying individuals with familial hypercholesterolemia (FH).

OBJECTIVES This study assessed the prevalence of genetically confirmed FH in patients with acute coronary syndrome (ACS) and compared the diagnostic performance of FH clinical criteria versus FH genetic testing.

METHODS Genetic study of 7 genes (*LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *APOE*, *STAP1*, *LDLRAP1*, and *LIPA*) associated with FH and 12 common alleles associated with polygenic hypercholesterolemia was performed in 103 patients with ACS, age ≤ 65 years, and LDL-C levels ≥ 160 mg/dL. Dutch Lipid Clinic (DLC) and Simon Broome (SB) FH clinical criteria were also applied.

RESULTS The prevalence of genetically confirmed FH was 8.7% (95% confidence interval [CI]: 4.3% to 16.4%; $n = 9$); 29% (95% CI: 18.5% to 42.1%; $n = 18$) of patients without FH variants had a score highly suggestive of polygenic hypercholesterolemia. The prevalence of probable to definite FH according to DLC criteria was 27.2% (95% CI: 19.1% to 37.0%; $n = 28$), whereas SB criteria identified 27.2% of patients (95% CI: 19.1% to 37.0%; $n = 28$) with possible to definite FH. DLC and SB algorithms failed to diagnose 4 (44%) and 3 (33%) patients with genetically confirmed FH, respectively. Cascade genetic testing in first-degree relatives identified 6 additional individuals with FH.

CONCLUSIONS The prevalence of genetically confirmed FH in patients with ACS age ≤ 65 years and with LDL-C levels ≥ 160 mg/dL is high (approximately 9%). FH clinical algorithms do not accurately classify patients with FH. Genetic testing should be advocated in young patients with ACS and high LDL-C levels to allow prompt identification of patients with FH and relatives at risk. (J Am Coll Cardiol 2017;70:1732–40) © 2017 by the American College of Cardiology Foundation.

Familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal dominant inherited genetic disorder with a prevalence historically estimated to be on the order of 1:500, but recent data suggest that it could be between 1:200 and 1:250 (1–3). Patients with FH have elevated levels of total cholesterol and

low-density lipoprotein (LDL) particles, as well as increased low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) arterial deposits, leading to coronary heart disease (CHD) (4,5).

Patients with FH have cardiovascular complications at an early age and a reduced life expectancy (6,7).



Listen to this manuscript's
audio summary by
JACC Editor-in-Chief
Dr. Valentin Fuster.



From the ^aInherited Cardiac Diseases Unit, Department of Cardiology, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid, Spain; ^bGendiag.exe, Inc/Ferrer inCode, Inc., Barcelona, Spain; ^cDepartment of Biochemistry, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid, Spain; ^dCIBER in Cardiovascular Diseases (CIBERCV), Madrid, Spain; ^eMyocardial Biology Program, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid, Spain; and the ^fFaculty of Health Sciences, University Francisco de Vitoria (UFV), Pozuelo de Alarcón, Madrid, Spain. This research was supported in part by the Instituto de Salud Carlos III (grants RD012/0042/0066 and CB16/11/00432), Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (grant SAF2015-71863-REDT), and Alexion through an Investigator Initiated Research Grant. Grants from the Instituto de Salud Carlos III and the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness are supported by the Plan Estatal de I+D+I 2013-2016 European Regional Development Fund (FEDER), “A way of making Europe.” The sponsors played no role in the design, collection, analysis, or interpretation of the data or in the decision to submit the manuscript for publication. Drs. Castillo, Lluís-Ganella, and Quintana are employees of Gendiag.exe/Ferrer inCode. All other authors have reported that they have no relationships relevant to the contents of this paper to disclose. Karol Watson, MD, served as Guest Editor for this paper.

Manuscript received May 14, 2017; revised manuscript received August 1, 2017, accepted August 8, 2017.

Early diagnosis followed by an aggressive cholesterol-lowering treatment regimen could prevent occurrence of cardiovascular events by reducing the long-term exposure of these patients and their affected relatives to high levels of LDL-C.

Diagnosis of FH was traditionally based on clinical algorithms, and several groups have developed clinical diagnostic criteria for identification of FH. Among the most widely used FH clinical criteria are those of the Simon Broome (SB) Register Group in the United Kingdom (8) and the Dutch Lipid Clinic (DLC) Network (9).

Advances in genetic testing have made FH genetic testing affordable, but recent studies have shown that FH diagnosis with the use of genetic testing in severely hypercholesterolemic individuals from the overall population is low (between 0.3% and 1.7%) (10,11). This low prevalence suggests a need to identify additional high-risk groups of patients for FH genetic testing. As such, patients with an acute coronary syndrome (ACS) may represent an optimal group for whom FH screening programs could be developed.

SEE PAGE 1741

Although the prevalence of genetically confirmed FH in patients with ACS has not been studied in detail, recent European data found a prevalence between 1.6% and 8.3% in this group of patients when using clinical algorithms (12-14). Patients with ACS and FH are at particularly elevated risk for recurrent cardiovascular complications (12), and current management of these patients focuses on aggressive lipid-lowering strategies. Prompt identification of FH among patients with ACS could be extremely useful to allow early intensification of lipid-lowering treatment and might lead to early identification of relatives with FH who have not yet experienced cardiovascular events but who would benefit from early initiation of intensive lipid-lowering therapies (9,15,16).

The goal of the present study was to determine the prevalence of genetically confirmed FH in patients with ACS and to evaluate the diagnostic performance of FH clinical criteria compared with FH genetic findings.

METHODS

Clinical records were reviewed for all patients ≤ 65 years of age hospitalized at Hospital Universitario Puerta de Hierro (Madrid, Spain) for ACS from January 1, 2012, to March 31, 2016. All patients with actual or estimated LDL-C levels ≥ 160 mg/dl (4.14 mmol/l) on admission were contacted and offered FH genetic testing. In all patients receiving statin therapy or ezetimibe before admission, LDL-C

levels were estimated by multiplying their LDL-C level on treatment with correction factors considering the drug and its dose, as previously reported (17-19). The effect of other lipid-lowering drugs was not considered.

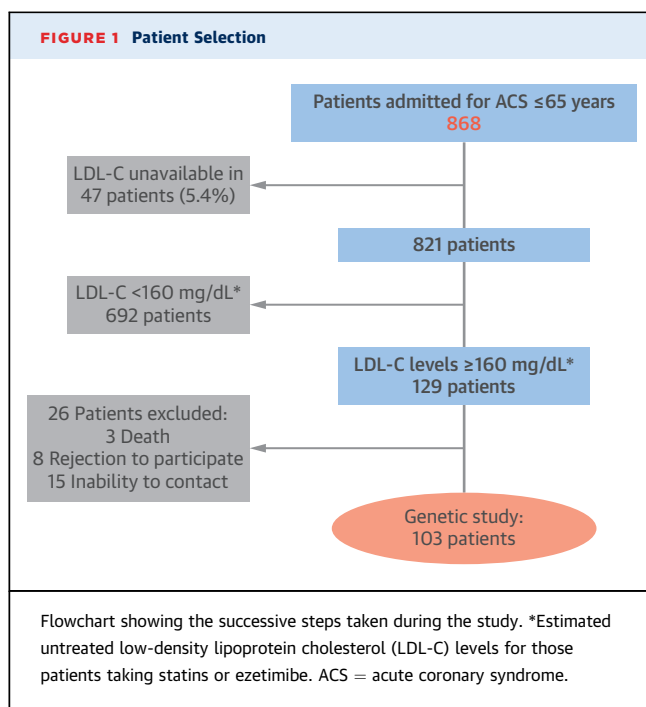
Levels of LDL-C were calculated according to the Friedewald formula (20). Patients were excluded from the study if their triglyceride levels were >350 mg/dl (4 mmol/l). Patients without information on cholesterol levels at admission and those with lipid disorders secondary to renal, thyroid, or liver diseases were also excluded.

Whole blood or saliva samples for deoxyribonucleic acid (DNA) analysis were collected from patients who were accepted into the study and, simultaneously, data about their personal and family history were collected, and a physical examination was performed. The patient selection process is represented in the flowchart in Figure 1. The study protocol complied with the Declaration of Helsinki and was approved by the ethics committee of Hospital Universitario Puerta de Hierro. All participants gave written informed consent to participate in the study.

FH CLINICAL CRITERIA. The clinical diagnosis of FH was based on 2 widely used FH clinical criteria recommended by international guidelines. The SB criteria (8), recommended by the United Kingdom's National Institute for Health and Care Excellence guidelines, considers a diagnosis of possible FH as a total cholesterol level >290 mg/dl or LDL-C level >190 mg/dl, plus a family history of premature coronary artery disease. A definite FH diagnosis requires the aforementioned cholesterol levels and the presence of tendon xanthomas in the patient or relatives (physical signs of hypercholesterolemia). The DLC criteria (9), endorsed by the European Society of Cardiology, the National Lipid Association in the United States, the International FH Foundation, and the European Atherosclerosis Society, considers LDL-C levels, physical signs, and a personal or family history of premature CHD (Online Tables 1 and 2). Possible FH is defined according to a DLC criteria score of 3 to 5 and probable to definite FH by using a score ≥ 6 . Both sets of criteria include genetic findings among the parameters to consider (which would, per se, at least for DLC clinical criteria, generate a definite diagnosis of FH). Because genetic information is usually not available for most clinicians, and because we wanted to compare the diagnostic performance of genetic testing versus clinical criteria, genetic information was not considered when calculating FH clinical criteria by both algorithms.

ABBREVIATIONS AND ACRONYMS

ACMG = American College of Medical Genetics and Genomics
ACS = acute coronary syndrome
CHD = coronary heart disease
DLC = Dutch Lipid Clinic
DNA = deoxyribonucleic acid
FH = familial hypercholesterolemia
LDL-C = low-density lipoprotein cholesterol
SB = Simon Broome
VUS = variants of unknown significance



DNA SEQUENCING. Genomic DNA was extracted from saliva or peripheral blood samples. Targeted enrichment was performed with a custom resequencing solution (Lipid inCode, Ferrer inCode, Barcelona, Spain). The design was based on the human reference genome (hg19), and 120 bp-length ribonucleic acid biotinylated baits were defined to extensively cover all regions of interest.

The experimental procedure was performed according to the manufacturer's instructions with some modifications as a result of our internal validations. Very briefly, 50 ng of high-quality double-stranded DNA from every sample was enzymatically fragmented and, after hybridization to the solution and capture, libraries were amplified by polymerase chain reaction and indexed. Final libraries were quantified and their quality assessed on a bioanalyzer using high-sensitivity DNA chips. All libraries were then pooled and sequenced (up to 40 per run). The sequencing paired-end process was developed on an integrated sequencing system using 2×75 bp reads length.

The in vitro diagnostic platform used performed the complete analysis of promoters, coding regions, and exon-intron boundaries of 5 genes associated with FH (*LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *APOE*, and *STAP1*) and 2 genes associated with other conditions that have partially overlapping clinical features with FH (autosomal recessive hypercholesterolemia [*LDLRAP1*] and lysosomal acid lipase deficiency [*LIPA*]).

The diagnostic platform used also interrogated a weighted LDL-C-raising gene score identified by the

Global Lipids Genetics Consortium (Online Table 3), based on 12 LDL-C-raising genetic variants; this score determines the likelihood that a patient has polygenic hypercholesterolemia. The calculation of the risk score was computed as described in Talmud *et al.* (21) and determined in patients without variants in FH-related genes. A gene score ≥ 1.08 , which is the ninth decile cutoff for the Whitehall II control cohort, has been proposed as highly suggestive of polygenic hypercholesterolemia (22).

Minimum mean coverage was 696 reads per position, and $>100\%$ of the fragments (gene regions as well as single nucleotide polymorphisms genotyped) had coverage >30 reads. Sanger sequencing was used to confirm the genetic variants found.

VARIANT DATA AND PATHOGENICITY CLASSIFICATION.

Variant data analysis is described in the Online Appendix. Variants with a minor allele frequency $<1\%$ in the general population were considered as noncommon variants. The potential pathogenicity of rare variants was evaluated by considering the recommendations published by the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) (23), in which different criteria are evaluated: type and variant frequency; functional data if available; scientific support; and computational information for predicted pathogenicity in genomic (PolyPhen2, Proven v.1.1.3, and MutationTaster2) or intronic (MaxEntScan, NNSplice, FSPLICE, and GeneSplicer) regions, among others (23). Moreover, information on $>2,200$ FH-related genomic variants included in a private database was also considered to complete the evaluation of genetic variants. Variants with a clinical relevance were reported as pathogenic (class I), likely pathogenic (class II), and variants of unknown significance (VUS) (class III).

All first-degree relatives of patients with pathogenic and likely pathogenic variants were offered clinical and genetic evaluation. In addition, clinical and genetic evaluation was proposed to first-degree relatives of patients with VUS who, according to ACMG recommendations, could be reclassified as pathogenic or likely pathogenic if a positive cosegregation is found. These VUS were reclassified as pathogenic or likely pathogenic if they segregated with the clinical phenotype in >2 relatives on familial evaluation. VUS without corroborative family screening data remained as VUS.

STATISTICAL ANALYSIS. Continuous data are reported as mean \pm SD. Discrete data are presented as percentages. Analysis of differences in characteristics between groups was conducted by using standardized effect size measures, estimating odds ratios for

categorical variables or Cohen's *d* for numerical values, as well as their corresponding 95% confidence intervals (CIs). The level of statistical significance was set at $p < 0.05$. Statistical analyses were performed by using IBM SPSS Statistics for Windows version 22.0 (IBM SPSS Statistics, IBM Corporation, Armonk, New York) and Stata/IC version 14.2 (StataCorp LLC, College Station, Texas).

RESULTS

The study cohort comprised 103 patients (mean age 54 ± 6.7 years; range 37 to 65 years), 87.4% of whom were male, admitted for an ACS. Forty-seven were admitted for ST-segment elevation myocardial infarction, 47 for non-ST-segment elevation myocardial infarction, and 9 for unstable angina. Mean LDL-C level at admission was 189.5 ± 34.7 mg/dl, but only 39 patients (37.9%) were receiving statin therapy. Sixteen patients (15.5%) had a history of CHD, 3 (2.9%) had a history of stroke, and 6 (5.8%) exhibited peripheral vascular disease. None of the patients had been diagnosed with FH previously by their primary care physicians or treating physicians. Other clinical characteristics are presented in [Table 1](#).

After clinical evaluation using the DLC algorithm, 12 patients (11.7%) fulfilled criteria for definite FH, and 16 patients (15.5%) had probable FH. Thus, DLC criteria classified 28 patients (27.2%) with probable or definite FH. Based on SB criteria, 28 patients (27.1%) had definite ($n = 2$; 1.9%) or possible ($n = 26$; 25.2%) FH ([Table 2](#)).

Genetic testing revealed 9 heterozygous pathogenic or likely pathogenic FH mutations in 9 individuals (8.7%). Seven mutations were found in the *LDLR* gene, 1 in *PCSK9*, and 1 in *STAP1* ([Online Table 4](#)). Five VUS were also found in patients with pathogenic or likely pathogenic FH mutations. Thirty-two patients carried 35 VUS, and 62 individuals (60.2%) had no genetic variation in FH-related genes. In addition, 7 patients were heterozygous for variants in *LDLRAP1* (autosomal recessive hypercholesterolemia), and 5 patients carried heterozygous variants in the *LIPA* gene (homozygous mutations in this gene cause lysosomal acid lipase deficiency).

Familial genetic evaluation was offered to first-degree relatives of the 9 patients with pathogenic or likely pathogenic mutations and to the relatives of the 6 patients with VUS (3 in *LDLR*, 2 in *APOB*, and 1 in *PCSK9*) ([Online Table 4](#)) that, based on the ACMG recommendations, could have been reclassified ([23](#)).

Familial screening was not possible or was rejected in 5 families (2 with pathogenic or likely pathogenic variants, and 3 with VUS). Clinical and genetic study

TABLE 1 Baseline Characteristics (N = 103)

Mean age at admission, yrs	54.0 \pm 6.7
Male	90 (87.4)
White race	91 (88.3)
Hypertension	42 (40.8)
Diabetes	18 (17.5)
Smoking	58 (56.3)
Glomerular filtration rate, ml/min/1.73 m ²	93.3 \pm 18.2
Total cholesterol, mg/dl	241.3 \pm 35.7
LDL-cholesterol, mg/dl	189.5 \pm 34.7
HDL-cholesterol, mg/dl	41.8 \pm 10.0
Triglycerides, mg/dl	154.2 \pm 61.7
On statins at admission	39 (37.9)
Other lipid-lowering agent	8 (7.8)
Unstable angina	9 (8.7)
Non-STEMI	47 (45.6)
STEMI	47 (45.6)
Previous CHD	16 (15.5)
Stroke	3 (2.9)
Peripheral vascular disease	6 (5.8)

Values are mean \pm SD or n (%).

CHD = coronary heart disease; HDL = high-density lipoprotein; LDL = low-density lipoprotein; STEMI = ST-segment elevation myocardial infarction.

of 21 first-degree relatives from 10 families (7 with pathogenic or likely pathogenic mutations, and 3 with VUS) was ultimately performed ([Online Table 5](#)). Familial evaluation did not allow reclassification of any VUS as pathogenic or likely pathogenic according to ACMG criteria ([23](#)). Therefore, the final prevalence of genetically confirmed FH among ACS patients ≤ 65 years of age with LDL-C levels ≥ 160 mg/dl was 8.7% (95% CI: 4.3% to 16.4%; $n = 9$) ([Figure 2](#)).

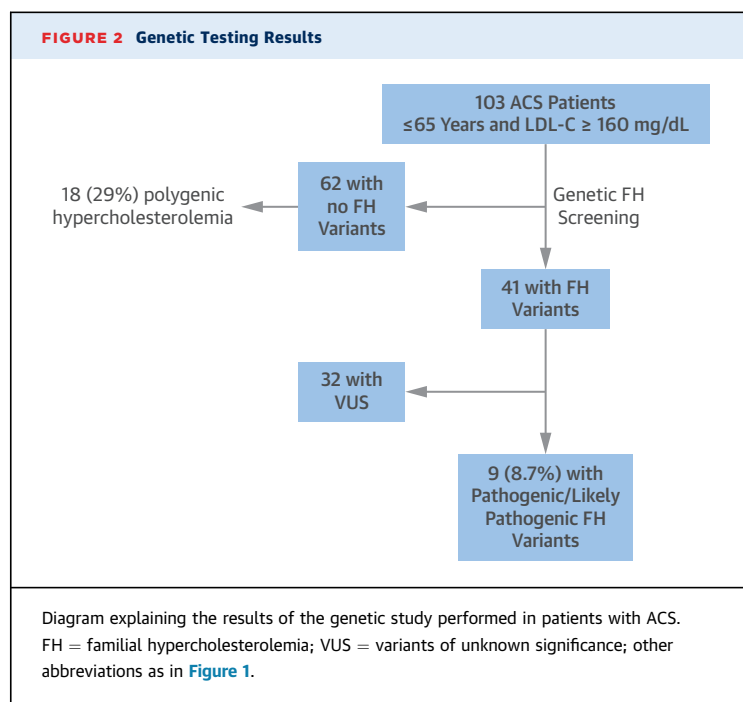
Clinical, analytical, and treatment characteristics of ACS patients with and without FH mutations were compared ([Table 3](#)). When comparing FH diagnosis according to genetic testing versus FH clinical criteria, 4 patients (44%) with genetically confirmed FH were not diagnosed according to DLC criteria, and 3 (33%) failed to be confirmed by using SB criteria ([Table 4](#)). Conversely, 82.1% (95% CI: 62.4% to 93.2%; $n = 23$) of patients diagnosed by using the DLC algorithm and 78.6% (95% CI: 58.5% to 90.9%; $n = 22$) diagnosed by using the SB criteria did not exhibit any

TABLE 2 Prevalence of FH Based on Clinical Scores Versus Genetic Study

Dutch Lipid Clinic Criteria	Simon Broome Criteria	Genetic Study
Unlikely FH: 23 (22.3)	Unlikely FH: 75 (72.8)	Negative: 62 (60.2)
Possible FH: 52 (50.4)	Possible FH: 26 (25.2)	VUS: 32 (31.1)
Probable FH: 16 (15.5)	Definite FH: 2 (1.9)	Pathogenic: 9 (8.7)
Definite FH: 12 (11.7)		

Values are n (%).

FH = familial hypercholesterolemia; VUS = variants of unknown significance.



FH mutation. Furthermore, 29.03% (95% CI: 18.5% to 42.13%; $n = 18$) of the individuals without FH genetic variants had a genetic score consistent with polygenic hypercholesterolemia. Of note, 3 patients who fulfilled DLC FH clinical criteria and who did not exhibit genetic variants in FH-causing genes had a genetic score suggestive of polygenic hypercholesterolemia. The familial study led to the diagnosis of 6 relatives

with FH mutations, of whom 4 presented with elevated LDL-C levels or were already taking statins ([Online Table 5](#)).

Finally, the retrospective nature of our study allowed us to analyze 1-year LDL-C levels in patients with ACS and with genetically confirmed FH identified in this study. Only 1 of the 9 patients had LDL-C levels <70 mg/dL, as recommended in guidelines. Two patients had levels between 70 and 100 mg/dL, and 6 patients had LDL-C levels >100 mg/dL, even though most of them were taking high doses of lipid-lowering drugs ([Online Table 6](#)).

DISCUSSION

The present study described, for the first time, a complete genetic analysis of genes associated with FH in patients with ACS who were ≤ 65 years of age and had LDL-C levels ≥ 160 mg/dL. Our study showed that the prevalence of genetically confirmed FH in these patients is approximately 9%. This finding is much lower than the estimated FH prevalence as determined by widely accepted clinical FH criteria (27% in our cohort) but at the same time much higher than what has been previously reported in other FH genetic screening studies ([Central Illustration](#)). Moreover, our study showed that FH clinical algorithms do not accurately identify FH subjects among patients with ACS, but FH genetic testing in this population is useful to facilitate early diagnosis of patients and their relatives at risk.

Early recognition of FH is essential because many patients with FH are unaware of their disease, which is a major cause of early CHD. Identifying FH allows specific counseling for diet and cardiovascular risk factors, and it ensures high-dose statin prescription and appropriate referral of family members for FH screening.

Recent European guidelines for prevention of CHD in FH underlined the utility of identifying causal mutations to facilitate cascade screening ([24](#)). Although cascade screening is the best means to identify patients with FH, as they can be identified before an event occurs, it requires earlier identification of the FH probands, which is not an easy task.

Recent screening studies in which participant selection was based solely on a single elevated LDL-C level were disappointing and reported FH mutations in $<2\%$ of patients with severe hypercholesterolemia ([10,11](#)). This low yield of FH diagnosis called into question the utility of genetic screening programs in unselected patients with high LDL-C levels; plus, it highlighted the need to find other clinical scenarios in which genetic screening would yield a higher uptake

TABLE 3 Characteristics of Patients With and Without Genetically Confirmed FH

	FH Mutation ($n = 9$)	No FH Mutation ($n = 94$)	Standardized Effect Size (95% CI)
Male	8 (87.2)	82 (88.9)	1.17 (0.13 to 56.21)
Mean age at admission, yrs	55.0 ± 5.9	54.0 ± 6.8	0.15 (-0.54 to 0.83)
White race	8 (88.9)	83 (88.3)	1.06 (0.12 to 51.26)
Statin at admission	4 (44.4)	35 (37.2)	1.35 (0.25 to 6.71)
Hypertension	3 (33.3)	39 (41.5)	0.71 (0.11 to 3.56)
Diabetes	1 (11.1)	17 (18.1)	0.57 (0.01 to 4.75)
Smoking	6 (66.7)	52 (55.9)	1.62 (0.32 to 10.53)
Previous ischemic heart disease	1 (11.1)	15 (16.0)	0.66 (0.01 to 5.59)
Stroke	1 (11.1)	2 (2.1)	5.75 (0.09 to 118.39)
Peripheral vascular disease	0 (0.0)	6 (6.4)	-
Total cholesterol, mg/dL	256.6 ± 52.2	239.8 ± 33.7	0.47 (-0.22 to 1.16)
LDL-cholesterol, mg/dL	222.3 ± 52.5	186.4 ± 31.1	1.08 (0.38 to 1.78)
HDL-cholesterol, mg/dL	40.22 ± 7.2	41.97 ± 10.5	-0.17 (-0.85 to 0.51)
Triglycerides, mg/dL	121.9 ± 32.7	157.3 ± 62.9	-0.58 (-1.27 to 0.11)
Family history of ischemic heart disease according to			
Dutch Lipid Clinic criteria	4 (44.4)	17 (18.1)	3.62 (0.64 to 8.58)
Simon Broome criteria	5 (55.6)	31 (33.0)	2.54 (0.50 to 13.62)

Values are n (%) or mean \pm SD, unless otherwise indicated.
CI = confidence interval; other abbreviations as in [Tables 1 and 2](#).

(10). Two approaches (national screening of infants with very high total cholesterol levels or primary care screening programs during routine immunization visits) have turned out to be very good strategies, as shown by 2 recent studies from Slovenia and the United Kingdom (25,26). Unfortunately, implementing national screening programs in children is complex, and this method cannot be applied in many countries. By contrast, identifying FH individuals during hospitalization for ACS could be of great interest in the absence of national FH screening programs. ACS might be the first manifestation of FH, and a hard event such as ACS could have a great impact among relatives, facilitating familial screening. Despite its suspected importance, the prevalence of genetically confirmed FH in ACS has never been investigated by using a complete genetic approach, and the only reported study described a very low detection rate (27).

Wald et al. (27) reported a prevalence of FH of 1.3% in young patients (≤ 50 years of age) with myocardial infarction at a London hospital. Unlike our study, the genetic analysis performed by these investigators included a panel of 48 known FH mutations and whole exon deletions or duplications of *LDLR* regardless of cholesterol levels, followed by Sanger sequencing of *LDLR* in individuals without mutations and a total cholesterol level >271 mg/dl. By contrast, we used next-generation sequencing to study the promoter, coding, and exon-intron boundary regions of 5 FH-causing genes. These methodological differences, plus a less restrictive patient approach (we included individuals ≤ 65 years of age and with LDL-C levels ≥ 160 mg/dl), could explain the differences found between the studies and should be considered when designing genetic screening programs.

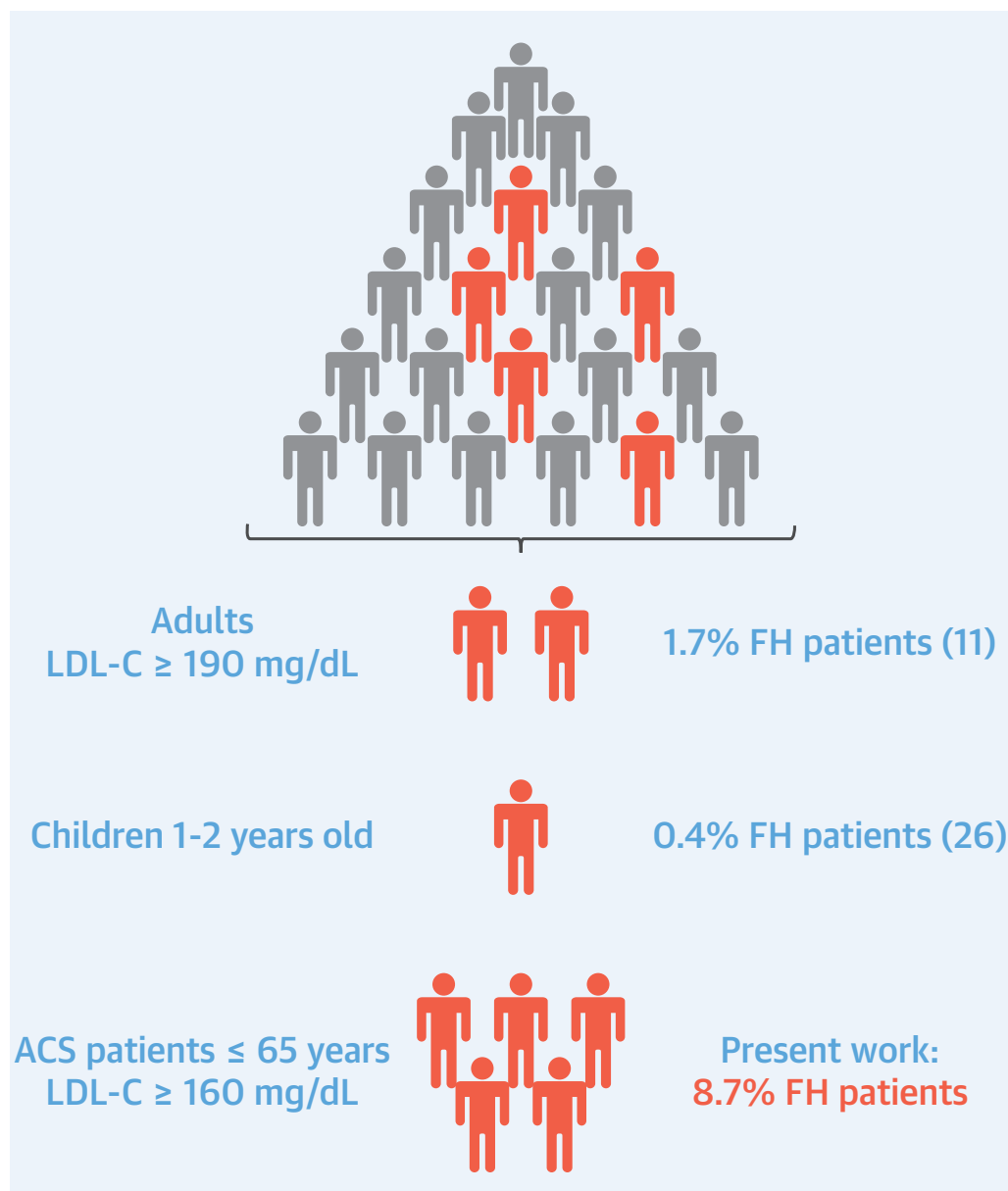
The prevalence of clinical FH in ACS patients has recently been studied in Europe by using FH clinical scores (13,14). In the Swiss SPUM-ACS (Special Program University Medicine-Acute Coronary Syndromes) cohort that included 4,778 patients with ACS, 1.6% (95% CI: 1.3% to 2.0%) of patients fulfilled criteria of probable to definite FH according to DLC criteria (14). The prevalence of clinical FH was 4.8% in 1,451 patients with ACS and premature CHD (<55 years of age for men and <60 years of age for women). In $>7,000$ European patients with CHD from the EUROASPIRE (European Action on Secondary and Primary Prevention through Intervention to Reduce Events) IV study, the prevalence of probable to definite FH was 8.3% overall but 15.4% in the 2,212 patients who were <60 years of age (13). Our study reported an FH prevalence of 27.2% (95% CI: 19.1% to 37.0%) according to the DLC and the SB criteria. We think that the higher prevalence found in our cohort

	FH Mutation (n = 9)	No Mutation + VUS (n = 94)	Odds Ratio (95% CI)
Score, Dutch Lipid Clinic criteria			
Unlikely FH	0 (0.0)	23 (24.5)	
Possible FH	4 (44.4)	48 (51.1)	
Probable FH	2 (22.2)	14 (14.9)	
Definite FH	3 (33.3)	9 (9.6)	
Score, Dutch Lipid Clinic criteria (probable or definite)	5 (55.5)	23 (24.5)	3.86 (0.75-20.86)
Score, Simon Broome criteria			
Unlikely	3 (33.3)	72 (76.6)	
Possible FH	6 (66.7)	20 (21.3)	
Definite FH	0 (0.0)	2 (2.1)	
Score, Simon Broome criteria (possible or definite)	6 (66.7)	22 (23.4)	6.54 (1.25-42.79)
Values are n (%), unless otherwise indicated. Abbreviations as in Table 2.			

was partly related to the LDL threshold used, which selected individuals with higher pre-test probability. In addition, data about clinical signs of lipid accumulation in tissue, as well as information on family history of elevated LDL-C level, were not available to the SPUM-ACS investigators, and they decided that missing information counted as zero in the DLC algorithm (14). By contrast, in our study, we were able to perform physical examination in all participants (the presence of xanthomas is one of the items that yields more points in the clinical scores) and also obtain data from the participants' personal and family history. These 2 critical factors (LDL-C threshold and clinical or familial information) might explain the higher FH prevalence as determined by clinical criteria found in the present study.

Nevertheless, one of the main findings of our study was the demonstration that FH clinical scores were unable to correctly identify ACS patients with and without FH. As shown here, 30% to 40% of patients with confirmed FH mutations were not detected by using FH clinical scores, whereas more than three-quarters of patients with ACS diagnosed with FH according to clinical scores did not harbor any FH mutation. Our findings aligned with recent publications (2,28), which have also shown that clinical FH criteria were unable to identify FH individuals compared with genetic testing. Nevertheless, our results must be taken in the context of the ACS setting, in which available information about FH prevalence is currently restricted to FH clinical criteria (13,14).

Recently, several opinion leaders in FH concluded that 3 parts of the FH clinical diagnostic criteria are no longer as useful as they once were (29). With the widespread use of statins over the last 30 years,

CENTRAL ILLUSTRATION Results of FH Genetic Screening Programs

Amor-Salamanca, A. *et al.* J Am Coll Cardiol. 2017;70(14):1732-40.

Familial hypercholesterolemia (FH) genetic screening in young patients with acute coronary syndrome (ACS) and high levels of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) improves detection of FH. Results of FH screening were compared in this cohort of 103 young patients (<65 years of age) with ACS and LDL-C levels >160 mg/dL versus a recent genetic screening study in adults with a single elevated LDL-C level >190 mg/dL (11) and with a primary care genetic screening program in children 1 to 2 years of age during routine immunization visits (26).

average LDL-C levels across the general population are lower, physical examination findings such as xanthomas are found less frequently, and family history information is less useful (i.e., there is the potential for less CHD development in FH families).

Our results also showed that FH clinical criteria do not seem to be useful in individuals with premature ACS, and the high FH genetic uptake found in our study would strongly favor the adoption of FH genetic testing strategies over FH clinical criteria in this

clinical setting. Interestingly, in our study, 29% of individuals without FH variants had a high score for polygenic hypercholesterolemia, which is also a relevant finding. Furthermore, 3 patients with a genetic score suggestive of polygenic hypercholesterolemia fulfilled FH clinical criteria and, in the absence of genetic study, their relatives would have had to undergo FH clinical screening according to current guidelines.

The National Institute for Health and Care Excellence cost-effectiveness study found that cascade screening was more efficient when guided by genetic testing for a known FH mutation (30). Because of the FH genetic screening performed in this study, clinical FH screening is no longer necessary in relatives of numerous patients who did not present FH mutations irrespective of the clinical criteria findings of the proband.

The present study also provided some data on the impact of identifying genetically confirmed FH among patients with ACS. At the 1-year follow-up, only 1 FH proband presented with recommended LDL-C levels <70 mg/dl even though most were receiving high doses of statin and, in some cases, ezetimibe as well. Recent data showed that patients with FH identified by using clinical criteria have a >2-fold adjusted risk of coronary event recurrence within the first year after discharge than patients without FH (12); other investigators have shown that a vast majority of patients with FH do not reach LDL-C target levels for secondary prevention (12,14,31). These results emphasize the need for better monitoring and utilization of available medication in patients with FH. Prompt recognition of FH status is extremely important to identify individuals with ACS and higher risk and who should be treated aggressively soon after the ACS event.

Finally, our study showed the benefits of FH genetic screening at the family level, as the maximum usefulness of FH genetic screening is not to identify subjects with FH who have already experienced an event but rather to identify other FH subjects at risk of future events that can be avoided. In our study, FH genetic screening allowed diagnosis of FH in 6 first-degree relatives who otherwise would have remained unidentified by clinical criteria in most cases. As an example of early FH diagnosis prompted by genetic screening in subjects with ACS, a 6-year-old girl with FH and an LDL-C level of 202 mg/dl was identified in our study (see family of 9 in [Online Table 5](#)). Given the importance of early diagnosis of FH before an event occurs, we believe that genetic studies constitute a fundamental tool to improve the prognosis of patients with FH.

STUDY LIMITATIONS. Most of the patients were white male subjects, which might limit the external

applicability of the results. LDL-C level was measured in the first 48 h after ACS admission, and some evidence suggests that LDL-C levels are decreased during this time. Moreover, untreated LDL-C levels were estimated for those patients who were taking statins or ezetimibe before admission. This approach might inaccurately estimate LDL-C level given the heterogeneity in drug selection, dosing, and individual response and variability across baseline LDL-C levels or mutation status. Furthermore, next-generation sequencing testing does not detect inversions and translocations. Although these genetic abnormalities probably are not major causes of FH, we cannot address their effect in our cohort. Although cost of FH next-generation sequencing genetic testing is now small (~300 to 350 Euros), and cascade FH screening is more efficient when guided by genetic testing, the cost-effective consequences of adopting a large-scale FH genetic screening program in patients with ACS following the criteria used in our study are unknown. Finally, the unicentric and retrospective nature of our research should be taken into consideration, and our results must be replicated, ideally in a large prospective study.

CONCLUSIONS

Prevalence of genetically confirmed FH in ACS patients ≤65 years of age and with an LDL-C level ≥160 mg/dl is high (approximately 9%). FH clinical algorithms do not accurately identify patients with FH in this setting, with a substantial number of patients with genetically confirmed FH unidentified by using clinical criteria, whereas there are also numerous individuals diagnosed with FH by using clinical criteria without FH mutations and with a genetic score consistent with polygenic hypercholesterolemia. Our data support the view that clinical criteria should not be used to identify FH in this setting. Instead, we believe that FH genetic testing should be advocated in young patients with ACS and high LDL-C levels to allow prompt identification of patients with FH and relatives at risk.

ACKNOWLEDGMENTS The authors gratefully acknowledge Kenneth McCreath, PhD, for manuscript editing and Ana Royuela, PhD, for statistical assistance.

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE: Dr. Pablo Garcia-Pavia, Department of Cardiology, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Manuel de Falla, 2. Majadahonda, Madrid, 28222, Spain, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Francisco de Vitoria (UFV), Ctra. M-515 Pozuelo-Majadahonda Km 1,800, 28223, Pozuelo de Alarcón, Madrid, Spain. E-mail: pablogpavia@yahoo.es.

PERSPECTIVES

COMPETENCY IN MEDICAL KNOWLEDGE: Patients with FH commonly develop ACS before 65 years of age. A substantial proportion of patients with genetically confirmed FH are not identified by using clinical criteria, whereas many of those identified by clinical algorithms have polygenic hypercholesterolemia.

TRANSLATIONAL OUTLOOK: Further studies are needed to assess the cost-effectiveness and impact on clinical outcomes of systematic genetic testing for young patients with high LDL-C levels who develop ACS.

REFERENCES

- Nordestgaard BJ, Chapman MJ, Humphries SE, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease. *Eur Heart J* 2013;34:3478-90.
- Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Mutations causative of familial hypercholesterolaemia: screening of 98 098 individuals from the Copenhagen General Population Study estimated a prevalence of 1 in 217. *Eur Heart J* 2016;37:1384-94.
- Do R, Stitzel NO, Won HH, et al. Exome sequencing identifies rare LDLR and APOA5 alleles conferring risk for myocardial infarction. *Nature* 2015;518:102-6.
- Perez de Isla L, Alonso R, Watts GF, et al. Attainment of LDL-cholesterol treatment goals in patients with familial hypercholesterolemia. 5-Year SAFEHEART registry follow-up. *J Am Coll Cardiol* 2016;67:1278-85.
- Hovingh GK, Davidson MH, Kastelein JJ, O'Connor AM. Diagnosis and treatment of familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J* 2013;34:962-71.
- Sharifi M, Rakhit RD, Humphries SE, Nair D. Cardiovascular risk stratification in familial hypercholesterolaemia. *Heart* 2016;102:1003-8.
- Marks D, Thorogood M, Neil HA, Humphries SE. A review on the diagnosis, natural history and treatment of familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 2003;168:1-14.
- Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *BMJ* 1991;303:893-6.
- Civeira F, International Panel on Management of Familial Hypercholesterolemia. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2004;173:55-68.
- Hopkins PN. Genotype-guided diagnosis in familial hypercholesterolemia: population burden and cascade screening. *Curr Opin Lipidol* 2017;28:136-43.
- Khera AV, Won HH, Peloso GM, et al. Diagnostic yield and clinical utility of sequencing familial hypercholesterolemia genes in patients with severe hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 2016;67:2578-89.
- Nanchen D, Gencer B, Muller O, et al. Prognosis of patients with familial hypercholesterolemia after acute coronary syndromes. *Circulation* 2016;134:698-709.
- De Backer G, Besseling J, Chapman J, et al. Prevalence and management of familial hypercholesterolaemia in coronary patients: an analysis of EUROASPIRE IV, a study of the European Society of Cardiology. *Atherosclerosis* 2015;241:169-75.
- Nanchen D, Gencer B, Auer R, et al. Prevalence and management of familial hypercholesterolaemia in patients with acute coronary syndromes. *Eur Heart J* 2015;36:2438-45.
- Shimada YJ, Cannon CP. PCSK9 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9) inhibitors: past, present, and the future. *Eur Heart J* 2015;36:2415-24.
- Saltijeral A, Pérez de Isla L, Alonso R, et al. Attainment of LDL cholesterol treatment goals in children and adolescents with familial hypercholesterolemia. The SAFEHEART Follow-up Registry. *Rev Esp Cardiol* 2017;70:444-50.
- Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study). *Am J Cardiol* 1998;81:582-7.
- Besseling J, Kindt I, Hof M, Kastelein JJ, Hutten BA, Hovingh GK. Severe heterozygous familial hypercholesterolemia and risk for cardiovascular disease: a study of a cohort of 14,000 mutation carriers. *Atherosclerosis* 2014;233:219-23.
- Masana L, Ibarretxe D, Plana N. Maximum low-density lipoprotein cholesterol lowering capacity achievable with drug combinations. When 50 plus 20 equals 60. *Rev Esp Cardiol* 2016;69:342-3.
- Friedewald WT, Levy RL, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
- Talmud PJ, Shah S, Whittall R, et al. Use of low-density lipoprotein cholesterol gene score to distinguish patients with polygenic and monogenic familial hypercholesterolaemia: a case-control study. *Lancet* 2013;381:1293-301.
- Futema M, Plagnol V, Li K, et al. Whole exome sequencing of familial hypercholesterolaemia patients negative for LDLR/APOB/PCSK9 mutations. *J Med Genet* 2014;51:537-44.
- Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17:405-24.
- Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, et al. 2016 European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: the sixth joint task force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts). Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular prevention and rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J* 2016;37:2315-81.
- Klančar G, Grošelj U, Kovac J, et al. Universal screening for familial hypercholesterolemia in children. *J Am Coll Cardiol* 2015;66:1250-7.
- Wald DS, Bestwick JP, Morris JK, Whyte K, Jenkins L, Wald NJ. Child-parent familial hypercholesterolemia screening in primary care. *N Engl J Med* 2016;375:1628-37.
- Wald DS, Bangash FA, Bestwick JP. Prevalence of DNA-confirmed familial hypercholesterolaemia in young patients with myocardial infarction. *Eur J Intern Med* 2015;26:127-30.
- Abul-Husn NS, Manickam K, Jones LK, et al. Genetic identification of familial hypercholesterolemia within a single U.S. health care system. *Science* 2016;354:1550-1.
- Kindt I, Mata P, Knowles JW. The role of registries and genetic databases in familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol* 2017;28:152-60.
- Nherera L, Marks D, Minhas R, Thorogood M, Humphries SE. Probabilistic cost-effectiveness analysis of cascade screening for familial hypercholesterolaemia using alternative diagnostic and identification strategies. *Heart* 2011;97:1175-81.
- Pijlman AH, Huijgen R, Verhagen SN, et al. Evaluation of cholesterol lowering treatment of patients with familial hypercholesterolemia: a large cross-sectional study in the Netherlands. *Atherosclerosis* 2010;209:189-94.

KEY WORDS cholesterol, Dutch Lipid Clinic, genetics, low-density lipoprotein cholesterol, Simon Broome criteria

APPENDIX For supplemental tables and material, please see the online version of this article.

Genetic Etiology for Alcohol-Induced Cardiac Toxicity



James S. Ware, MRCP, PhD,^{a,b,c,*} Almudena Amor-Salamanca, MD,^{d,*} Upasana Tayal, MRCP, PhD,^{a,b,*} Risha Govind, MSc,^{a,b,e,*} Isabel Serrano, MD,^f Joel Salazar-Mendiguchía, MD,^{g,h} Jose Manuel García-Pinilla, MD, PhD,^{i,j} Domingo A. Pascual-Figal, MD, PhD,^{i,k} Julio Nuñez, MD, PhD,^{i,l} Gonzalo Guzzo-Merello, MD, PhD,^d Emiliano Gonzalez-Vioque, PhD,^m Alfredo Bardaji, MD, PhD,^f Nicolas Manito, MD, PhD,^g Miguel A. López-Garrido, MD,^{i,j} Laura Padron-Barthe, PhD,^{d,i} Elizabeth Edwards, PhD,^{a,b} Nicola Whiffin, PhD,^{a,b,c} Roddy Walsh, MSc, PhD,^{a,b} Rachel J. Buchan, MSc,^{a,b} William Midwinter, BSc,^{a,b} Alicja Wilk, BSc,^{a,b} Sanjay Prasad, MD,^{a,b} Antonis Pantazis, MD,^b John Baski, MRCP, PhD,^b Declan P. O'Regan, MRCP, PhD,^c Luis Alonso-Pulpon, MD, PhD,^{d,i} Stuart A. Cook, MRCP, PhD,^{a,c,n,o} Enrique Lara-Pezzi, PhD,^{i,p} Paul J. Barton, PhD,^{a,b,*} Pablo Garcia-Pavia, MD, PhD,^{d,i,q,*}

ABSTRACT

BACKGROUND Alcoholic cardiomyopathy (ACM) is defined by a dilated and impaired left ventricle due to chronic excess alcohol consumption. It is largely unknown which factors determine cardiac toxicity on exposure to alcohol.

OBJECTIVES This study sought to evaluate the role of variation in cardiomyopathy-associated genes in the pathophysiology of ACM, and to examine the effects of alcohol intake and genotype on dilated cardiomyopathy (DCM) severity.

METHODS The authors characterized 141 ACM cases, 716 DCM cases, and 445 healthy volunteers. The authors compared the prevalence of rare, protein-altering variants in 9 genes associated with inherited DCM. They evaluated the effect of genotype and alcohol consumption on phenotype in DCM.

RESULTS Variants in well-characterized DCM-causing genes were more prevalent in patients with ACM than control subjects (13.5% vs. 2.9%; $p = 1.2 \times 10^{-5}$), but similar between patients with ACM and DCM (19.4%; $p = 0.12$) and with a predominant burden of titin truncating variants (TTNtv) (9.9%). Separately, we identified an interaction between TTN genotype and excess alcohol consumption in a cohort of DCM patients not meeting ACM criteria. On multivariate analysis, DCM patients with a TTNtv who consumed excess alcohol had an 8.7% absolute reduction in ejection fraction (95% confidence interval: -2.3% to -15.1%; $p < 0.007$) compared with those without TTNtv and excess alcohol consumption. The presence of TTNtv did not predict phenotype, outcome, or functional recovery on treatment in ACM patients.

CONCLUSIONS TTNtv represent a prevalent genetic predisposition for ACM, and are also associated with a worse left ventricular ejection fraction in DCM patients who consume alcohol above recommended levels. Familial evaluation and genetic testing should be considered in patients presenting with ACM. (J Am Coll Cardiol 2018;71:2293-302)

© 2018 The Authors. Published by Elsevier on behalf of the American College of Cardiology Foundation. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



Listen to this manuscript's
audio summary by
JACC Editor-in-Chief
Dr. Valentin Fuster.



From the ^aNational Heart and Lung Institute, Imperial College London, London, United Kingdom; ^bCardiovascular Research Centre, Royal Brompton and Harefield NHS Foundation Trust London, London, United Kingdom; ^cMRC London Institute of Medical Sciences, Imperial College London, London, United Kingdom; ^dHeart Failure and Inherited Cardiac Diseases Unit, Department of Cardiology, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid, Spain; ^eInstitute of Psychiatry, Psychology and Neuroscience, Social Genetic and Developmental Psychiatry Centre, King's College London, London, United Kingdom; ^fDepartment of Cardiology, Hospital Universitario de Tarragona Joan XXIII, IISPV, Rovira Virgili University, Tarragona, Spain; ^gInherited Cardiac Diseases Unit, Department of Cardiology, Hospital Bellvitge, Barcelona, Spain; ^hGenetics Department, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, Spain; ⁱCIBER in Cardiovascular Diseases, Madrid, Spain; ^jHeart Failure and Inherited Cardiac Diseases Unit, Department of Cardiology, Hospital Universitario Virgen de la Victoria, IBIMA, Málaga, Spain; ^kDepartment of Cardiology, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, IMIB-Arrixaca, University of Murcia, Murcia, Spain; ^lCardiology Department, Hospital Clínico Universitario, INCLIVA Universitat de Valencia, Valencia, Spain; ^mDepartment of Biochemistry, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid, Spain; ⁿNational Heart Research Institute Singapore, National Heart Centre Singapore, Singapore; ^oDivision of Cardiovascular & Metabolic Disorders, Duke-National University of Singapore, Singapore; ^pMycocardial Biology Programme, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid, Spain; and the ^qUniversity Francisco de Vitoria (UFV), Pozuelo de Alarcón, Madrid, Spain. *Drs. Ware, Amor-Salamanca, Tayal, Govind, Barton, and

ABBREVIATIONS AND ACRONYMS

ACM = alcoholic
cardiomyopathy

DCM = dilated cardiomyopathy

ExAC = Exome Aggregation
Consortium

LVEF = left ventricular ejection
fraction

TTNtv = titin truncating variant

Alcoholic cardiomyopathy (ACM) is caused by chronic and excessive alcohol intake (1-4). Although moderate levels of alcohol consumption may have some beneficial cardiovascular effects (3,5), prolonged and excessive consumption can lead to deleterious consequences including cardiac arrhythmias and a dilated cardiomyopathy (DCM) phenotype (2-5). The pathophysiology of ACM is not fully understood, and the relationship between the degree of alcohol exposure and severity of end-organ damage is not simple (2,6). In particular, not all individuals with high alcohol intake develop ACM, and this heterogeneity in response indicates differences in underlying susceptibility, likely both genetic and environmental. However, studies of heritable contributors to ACM are currently limited (7,8). Prognosis in ACM is poor, but is considered more favorable than DCM generally, with recovery observed in up to one-third of cases, especially when alcohol intake is reduced (3). Current management of ACM individuals includes cessation of alcohol exposure, standard heart failure medications, and prevention of sudden cardiac death (2,6,9). As the genetic contribution to ACM is currently unknown, familial evaluation is not part of ACM management.

SEE PAGE 2303

DCM is estimated to affect up to 1 in 250 individuals (10) and has a significant genetic contribution, with truncation variants in the gene encoding titin (TTNtv), a key sarcomeric protein, representing the predominant genetic cause, seen in 10% to 20% of cases (11-13). It is also recognized that up to 1% of the general population carry a TTNtv, presenting a significant challenge to interpretation (12). Genetic and/or environmental factors likely underlie the variable penetrance and expressivity. In line with

this, recent evidence has shown that over 10% of patients with peripartum cardiomyopathy carry a TTNtv, suggesting that in some patients, the DCM phenotype results from a combination of pregnancy with a genetic predisposing background (14).

Moreover, we have recently demonstrated that TTNtv found in the general population are not phenotypically silent (15); although the population prevalence of TTNtv exceeds the prevalence of DCM, careful phenotyping reveals differences in cardiac volumes in subjects with and without TTNtv. Using a rat model, we found essentially normal resting cardiac function, but subclinical metabolic abnormalities in TTNtv carriers and impaired cardiac physiology under conditions of cardiac stress (15). Together, these data suggest that TTNtv may predispose to cardiomyopathy, with environmental factors modulating penetrance and expressivity.

Here, we sought to evaluate genetic determinants in the pathophysiology of ACM by characterizing genetic variation in known DCM-causing genes in a large ACM cohort. We sequenced 141 individuals with ACM and compared these with healthy volunteers (n = 445), individuals with DCM (n = 366), and population-based variant frequency data (Exome Aggregation Consortium [ExAC]; n = 60,706). We further evaluated the phenotypic effect of excessive alcohol intake (below the levels required for a diagnosis of ACM) in the context of TTNtv in a wider cohort of 716 DCM subjects.

METHODS

The study conformed to the ethical principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the local institutional review board of Hospital Universitario Puerta de Hierro and a National Health Service Health Research Authority Research Ethics Committee. All patients provided written informed consent.

Garcia-Pavia contributed equally to this work. This work was supported by the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) (PI15/01551), the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (SAF2015-71863-REDT), the Wellcome Trust (107469/Z/15/Z), the British Heart Foundation (SP/10/10/28431), the Medical Research Council, the National Institute for Health Research (NIHR) Cardiovascular Biomedical Research Unit based at Royal Brompton & Harefield NHS Foundation Trust and Imperial College London, the NIHR Biomedical Research Centre based at Imperial College London Healthcare NHS Trust and Imperial College London, the Fondation Leducq (11 CVD-01), and a Health Innovation Challenge Fund award from the Wellcome Trust and Department of Health, United Kingdom (HICF-R6-373). The CNIC is supported by the Ministry of Economy, Industry and Competitiveness and the Pro CNIC Foundation, and is a Severo Ochoa Center of Excellence (SEV-2015-0505). Grants from ISCIII and the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness are supported by the Plan Estatal de I+D+I 2013-2016—European Regional Development Fund (FEDER) “A way of making Europe.” The Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda and Hospital Virgen de la Arrixaca are members of the European Reference Network for rare, low-prevalence, and complex diseases of the heart (ERN GUARD-Heart). The funders played no role in the design, collection, analysis, or interpretation of the data or in the decision to submit the manuscript for publication. Prof. Cook is cofounder and a shareholder of Enleofen Bio. All other authors have reported that they have no relationships relevant to the contents of this paper to disclose.

Manuscript received January 5, 2018; revised manuscript received February 14, 2018, accepted March 1, 2018.

ACM CASES. A total of 141 unrelated patients with ACM (Table 1) were recruited for this study from 6 Spanish hospitals. ACM was defined as DCM with a history of prolonged and heavy alcohol consumption: that is, a self-reported history of alcohol intake of >80 g/day over a period of at least 5 years (2,3,6), with excess intake continuing up to no <3 months before initial diagnosis of ACM, in combination with DCM defined by established criteria of left ventricular dilation and reduced ejection fraction in the absence of coronary artery disease (invasive or computed tomography angiographic evidence of >50% stenosis in any major epicardial coronary artery, or previous percutaneous coronary intervention or coronary artery bypass grafting) or abnormal loading conditions (uncontrolled hypertension or significant primary valvular disease). Outcome information was collected until last available follow-up, or at death or transplantation, and follow-up time was truncated at 12 years. Although a specific program for alcohol discontinuation was not provided, complete abstinence from alcohol was recommended to all ACM patients. Endpoints were pre-specified as: 1) death or cardiac transplantation; and 2) recovery defined as an absolute increase in left ventricular ejection fraction (LVEF) $\geq 10\%$ to a final value of $\geq 40\%$ (16). Survival analyses measured time from diagnosis (first assessment in heart failure clinic) to first event. Although genotype, which defined groups for comparison in survival analysis, was ascertained retrospectively, both clinical care and outcome adjudication were blinded to genotype.

DCM CASES. A total of 716 consecutive patients with DCM confirmed by late gadolinium enhancement cardiac magnetic resonance were prospectively enrolled in the Royal Brompton Hospital Cardiovascular Research Centre Biobank between 2009 and 2015 as previously described (17). DCM was diagnosed based on established criteria of left ventricular dilation and reduced ejection fraction with reference to age- and sex-adjusted nomograms (18) in the absence of known coronary artery disease (defined as presence of sub-endocardial late gadolinium enhancement suggestive of previous myocardial infarction or >50% stenosis in any major epicardial coronary artery or previous percutaneous coronary intervention or coronary artery bypass grafting) or abnormal loading conditions as for ACM. The complete 716 DCM cohort was evaluated for phenotypic correlates of *TTN* genotype and alcohol exposure (described in the following text), and a subset of 366 unrelated cases that were matched both technically and by ethnicity with the ACM cohort were used for comparative genetic analysis.

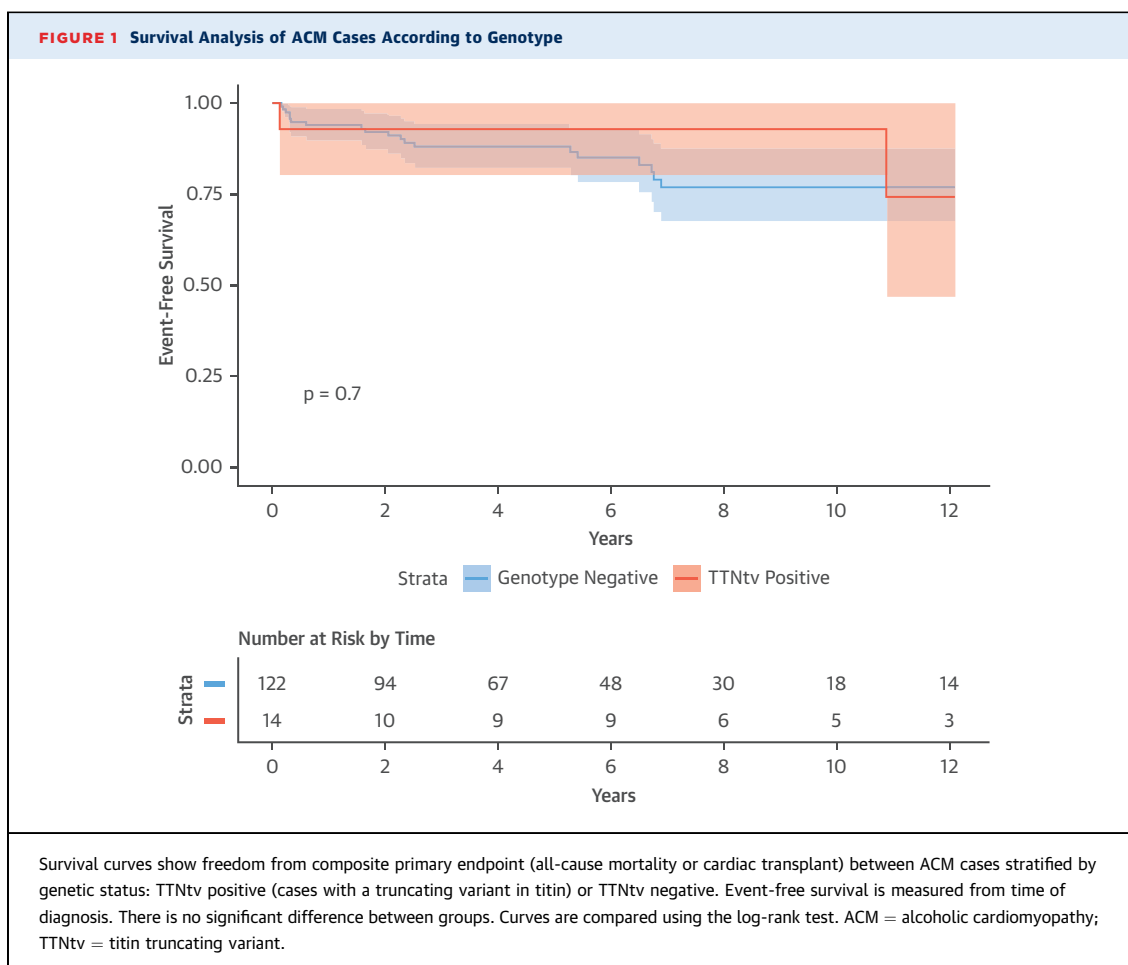
TABLE 1 Clinical Characteristics of Patient Cohorts

	ACM (n = 141)	DCM (n = 366)	Healthy Volunteer (n = 445)
Age at scan, yrs	53.2 \pm 10.0	56.0 \pm 13.6	40.8 \pm 13.5
Left ventricular ejection fraction (echo), %	26.5 \pm 9.3	—	—
Left ventricular ejection fraction (CMR), %	—	38.7 \pm 12.8	66.1 \pm 5.1
Left ventricular end-diastolic diameter (echo), mm	65.6 \pm 9.1	—	—
Left ventricular end-diastolic volume (CMR), ml	—	257.7 \pm 82.6	149.3 \pm 32.6
Males	138 (97.9)	255 (69.7)	201 (45.2)
Ethnicity (Caucasian)	141 (100.0)	366 (100.0)	445 (100.0)

Values are mean \pm SD or n (%).
ACM = alcoholic cardiomyopathy; CMR = cardiac magnetic resonance; DCM = dilated cardiomyopathy.

HEALTHY VOLUNTEERS. A total of 445 healthy volunteers free from self-reported cardiovascular disease or a family history of disease were recruited prospectively via advertisement to the U.K. Digital Heart Project at the MRC-LMS, Imperial College London (15). All participants underwent clinical assessment, including cardiac magnetic resonance, to confirm the absence of cardiac disease.

NEXT-GENERATION SEQUENCING AND VARIANT ANALYSIS. See the Online Methods in the Online Appendix for full details on sequencing, variant filtering, and annotation. In brief, sequencing was carried out using the Illumina TruSight Cardio Sequencing kit (San Diego, California) (19) or a custom Agilent SureSelect XT target capture (Santa Clara, California) with similar content and run on Illumina platforms or Life Technologies 5500XL (Waltham, Massachusetts). Rare (ExAC filtering allele frequency [20] $< 8.4 \times 10^{-5}$) protein-altering variants were identified in genes and variant classes proven to be robustly associated with DCM (Online Table 1). In the case of titin, analysis was further restricted to truncating variants in exons constitutively expressed in the heart as described (12). Although the Illumina TruSight Cardio sequencing kit captures 61 genes purportedly associated with DCM (full gene list and variants detected are given in Online Table 7), we decided to be conservative and pre-specified a focused analysis on 9 genes with the most robust evidence of disease association (*TTN*, *DSP*, *MYH7*, *LMNA*, *TTNT2*, *TCAP*, *SNC5A*, *BAG3*, and *TNNC1*) and compared the prevalence of rare protein-altering variants in subjects who were matched both technically (TruSight Cardio panel and NextSeq platform [both Illumina]) and by ethnicity (self-reported Caucasian, confirmed by PCA analysis [see Online Methods in the Online Appendix]). The 9 genes assessed are those with a demonstrated excess of rare variation in DCM clinical cohorts over



ExAC reference samples, for either truncating or nontruncating variants (13,21).

EVALUATION OF ALCOHOL AS A PHENOTYPIC MODIFIER IN DCM. We investigated the effect of alcohol consumption on phenotype in DCM patients using self-reported weekly consumption together with a review of hospital and primary care medical records for a history of alcohol excess prior to study recruitment. No patients had a history of prolonged heavy alcohol consumption for a diagnosis of ACM. “Excess alcohol consumption” in DCM was defined as a binary variable indicating a history of consumption >21 U/week for men and >14 U/week for women (1 U of alcohol = 10 ml or 8 g of pure alcohol, an amount the average adult metabolizes in 1 h) (22), levels representing the “sensible limits” for alcohol consumption from U.K. consensus medical advice (23) from 1987 to 2016.

Univariable linear regression was performed to identify variables predictive of LVEF at study recruitment. LVEF was measured while blind to genotype. Variables with $p < 0.10$ in univariable

analysis were included in a multivariable model, which was then optimized by reverse stepwise selection until only significant variables were included. The pre-specified main analysis assessed the significance of an interaction term between TTNtv and “excess alcohol consumption” added to this optimized multivariable model predicting LVEF, to determine whether TTNtv and alcohol consumption in combination have any additional effect beyond the effects of TTNtv and alcohol separately. A p value ≤ 0.05 was considered statistically significant.

Statistical analyses were conducted in the R environment, version 3.0 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). All data and code required to reproduce these analyses are available online (24).

RESULTS

GENETIC CONTRIBUTION TO ACM. To investigate the potential genetic contribution of cardiomyopathy

TABLE 2 Burden Analysis of Rare, Protein-Altering Variants in DCM-Related Genes Between Cohorts

	ACM (n = 141)	DCM (n = 366)	Healthy Volunteer (n = 445)	*ACM vs. DCM	*ACM vs. Healthy Volunteer	*DCM vs. Healthy Volunteer
All genes	19 (13.5) (7.8%–19.1%)	71 (19.4) (15.3%–23.4%)	13 (2.9) (1.4%–4.5%)	0.12	1.2×10^{-5}	5.4×10^{-15}
TTNtv	14 (9.9) (5.0%–14.9%)	44 (12.0) (8.7%–15.4%)	3 (0.7) (0.0%–1.4%)	0.64	4.4×10^{-7}	6.4×10^{-12}
Genes other than <i>TTN</i>	6 (4.3) (0.9%–7.6%)	28 (7.7) (4.9%–10.4%)	10 (2.2) (0.9%–3.6%)	0.23	0.23	0.00035

Values are n (%) (95% confidence interval). The number of individual cases with a rare protein-altering variant is shown. *TTN* variants are TTNtv only; other variants are as described in [Online Table 1](#). In ACM, 1 case had both a TTNtv and *LMNA* variant. In DCM, 1 case had both a TTNtv and a *BAG3* variant. *Unadjusted p value (Fisher exact test).
TTNtv = titin truncating variant; other abbreviations as in [Table 1](#).

genes to ACM, we examined cases for the presence of rare protein-altering variants in 9 genes known to cause DCM that were selected according to their previously reported excess of rare variants in DCM compared with control subjects (21). The frequency of variants was then compared between ACM cases, technically and ethnically matched DCM cases, and healthy volunteers (n = 141, n = 366, and n = 445, respectively) (cohort characteristics are shown in [Table 1](#)). We identified 20 distinct variants in 19 ACM cases involving 4 different genes ([Table 2](#), [Online Tables 2 and 3A and 3B](#)). The prevalence of variants in ACM was significantly higher than in healthy volunteers (13.5% of ACM cases carry at least 1 variant vs. 2.9% of healthy volunteers; p = 0.000012), but not statistically different from the prevalence in the DCM cohort (19.4%; p = 0.12). The rate in healthy volunteers was as expected for the general population ([Online Table 2](#)). TTNtv accounted for the majority of variants detected in ACM cases (9.9%) and were found with a frequency similar to that seen in DCM (12.0%; p = 0.64), and significantly higher than in

control subjects (0.7%; p = 4.4×10^{-7}). In line with studies in DCM ([10–12,15](#)), TTNtv found in ACM were in exons constitutively expressed in the heart and distributed across the gene ([Online Figure 1](#)) with 13 of 14 being novel (i.e., absent from previous DCM cases, healthy volunteers, and ExAC).

We identified 6 ACM cases with rare, protein-altering variants in other DCM genes: 1 carrying a *BAG3* truncating variant previously reported in DCM (25) and classified as pathogenic for DCM under current variant interpretation guidelines from the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology ([Online Tables 3A and 3B](#)) (26), 1 carrying a novel *BAG3* missense variant, 1 carrying both a TTNtv and a novel *LMNA* missense mutation, and 3 cases each carrying different *MYH7* variants.

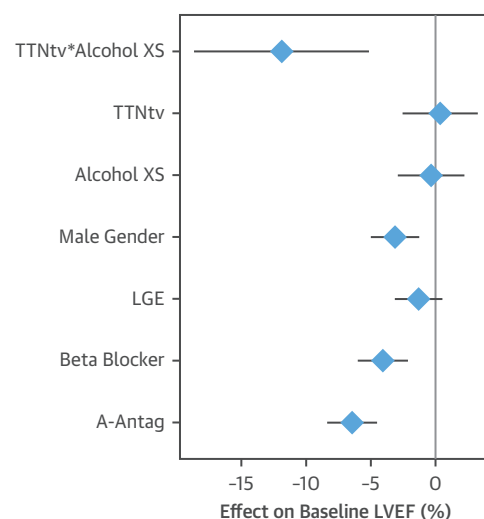
There were no detectable differences in phenotype or demographics between ACM cases with and without TTNtv ([Table 3](#), [Online Table 4](#)), with the notable exception of family history of cardiomyopathy. On follow-up (overall mean follow-up = 5.9 ± 5.2

TABLE 3 Characteristics of ACM Cases With and Without Titin Truncating Variants

	TTNtv (n = 14)	Genotype Negative (n = 122)	Other Variants (n = 5)	*p Value
Alcohol, g/day	139.0 ± 68.7	136.0 ± 50.1	122.0 ± 34.6	0.85
Age at initial clinical assessment, yrs	49.4 ± 12.9	53.4 ± 9.6	58.8 ± 11.1	0.31
Initial left ventricular ejection fraction, %	25.1 ± 10.7	26.5 ± 9.1	30.4 ± 10.5	0.35
Initial left ventricular end-diastolic diameter, mm	63.2 ± 6.6	65.8 ± 9.2	68.4 ± 11.7	0.37
Male	13 (92.9)	120 (98.4)	5 (100.0)	0.28
Atrial fibrillation	5 (35.7)	41 (33.6)	3 (60.0)	1.00
Family history of cardiomyopathy	6 (42.9)	9 (7.4)	1 (20.0)	0.0012
Family history of sudden cardiac death	1 (7.1)	12 (9.8)	0 (0.0)	1.00
Outcomes	14	120	5	
Mean follow up period, yrs	8.3 ± 7.2	5.8 ± 4.9	5.5 ± 4.9	0.26
Death or transplant	3 (21.4)	19 (15.8)	3 (60.0)	0.96
Stable with recovery of left ventricular ejection fraction	7 (50.0)	55 (45.8)	0 (0.0)	0.78
Stable without recovery of left ventricular ejection fraction	4 (28.6)	46 (38.3)	2 (40.0)	0.57

Values are mean ± SD, n (%), or n. Age, left ventricular ejection fraction, left ventricular end-diastolic diameter, and atrial fibrillation taken at time of initial clinical assessment. *Unadjusted p values of TTNtv vs. genotype negative: Mann-Whitney U test for continuous variables, Fisher exact test for categorical variables, and Cox proportional hazard test for survival (death or transplant).
TTNtv = titin truncating variant.

FIGURE 2 Alcohol and TTNtv Act in Combination, and Together Are Associated With a Lower Baseline LVEF in Patients With DCM



Forest plot showing regression coefficient and 95% confidence intervals from the multivariable linear regression model evaluating the effects of TTNtv and excess alcohol consumption on baseline LVEF. The effect on LVEF is shown as absolute difference in LVEF (% = expressed as percentage of end-diastolic volume) between groups. A-Antag = aldosterone antagonist; Alcohol XS = excess alcohol consumption (binary variable indicating consumption >21 U/week for men, >14 U/week for women); LGE = late gadolinium enhancement (indicative of mid-wall fibrosis) on cardiovascular magnetic resonance; LVEF = left ventricular ejection fraction; TTNtv = presence of truncating variant in titin; TTNtv*Alcohol XS = interaction term representing individuals with both a TTNtv and a history of excess alcohol consumption.

years), TTNtv status did not predict outcomes after reduction in alcohol intake and treatment for heart failure, with approximately one-half of all ACM cases showing LVEF recovery irrespective of TTNtv status (Table 3), and no detectable difference in event-free survival between the 2 groups (Figure 1).

ALCOHOL AS A PHENOTYPIC MODIFIER IN DCM. Having established a genetic contribution to ACM in a proportion of cases, primarily driven by TTNtv, we investigated the interaction between TTNtv and alcohol consumption in the context of DCM but in the absence of prolonged and heavy alcohol consumption meeting criteria for ACM. A total of 111 of 716 DCM cases (15.5%) had a history of excess consumption (above U.K. guidelines, see the Methods section). These individuals were more likely to be male, and in univariate analyses had modestly reduced LVEF

(median: 37.0% vs. 41.0%; $p = 0.02$) and right ventricular ejection fraction (median: 48.0% vs. 54.0%; $p < 0.001$) compared with DCM patients without a history of excess alcohol consumption (Online Table 5). A total of 83 DCM cases carried a TTNtv (11.6%). The presence of a TTNtv alone did not predict LVEF. In multivariable analysis accounting for covariate predictors of baseline LVEF, neither TTNtv nor excess alcohol consumption were significant predictors in isolation, but patients with both TTNtv and excess alcohol consumption ($n = 13$) had a statistically significant and biologically important reduction in LVEF (Figure 2, Online Tables 6A and 6B), with an 8.7% absolute reduction (95% confidence interval: -15.1 to -2.3; $p = 0.007$) compared with DCM with neither TTNtv nor excess alcohol consumption.

DISCUSSION

This study demonstrates an important genetic predisposition to ACM. We present a large series of ACM patients genotyped for variants in 9 genes associated with inherited DCM, and identified rare, protein-altering variants in 19 of 141 ACM cases (13.5%), a frequency significantly higher than that observed in healthy volunteers (2.9%; $p = 0.000012$) and population controls (ExAC, 4.3%; $p = 0.0000059$), but similar to that seen in DCM cases (19.4%; $p = 0.12$) (Central Illustration). Our findings demonstrate that in a proportion of ACM subjects, the disease has a genetic etiology.

The data presented here indicate that patients with alcohol-related cardiomyopathy should undergo a 3-generation pedigree and should be considered for familial evaluation, such as clinical screening and genetic testing, to identify family members at risk for developing DCM (in line with current practice for idiopathic DCM).

An illustration of the utility of genetic management in ACM is shown in Figure 3, where familial evaluation identified several individuals with DCM, and molecular genetic testing enabled informed genetic counseling including reproductive advice. This reveals the importance of recognizing genetic disease and familial assessment, although future work will be needed to more fully understand the risk associated with genetic variants found in the absence of overt familial disease, to balance the costs and benefits associated with genetic testing and clinical surveillance, and to allow for fully informed genetic counseling.

We further identified a direct interaction between TTNtv and alcohol consumption in the context of

CENTRAL ILLUSTRATION Alcohol Consumption and Genetic Background Act in Concert to Determine Cardiac Phenotype



PHENOTYPE	
Alcoholic Cardiomyopathy (ACM)	Dilated Cardiomyopathy (DCM)
<p>Prevalence of rare genetic variants in cardiomyopathy genes:</p> <p>ACM: 13.5% Controls: 2.9%</p> <p>$P_{\text{Fisher}} = 0.000012$</p>	<p>LVEF according to titin truncating variant (TTNtv) status and alcohol intake:</p> <p>no TTNtv or excess alcohol intake: $39.6 \pm 12.2\%$ TTNtv only: $39.8 \pm 13.2\%$ excess alcohol intake only: $37.8 \pm 11.8\%$ TTNtv AND excess alcohol intake: $27.7 \pm 12.7\%$</p> <p>$P_{\text{Multivariate}} = 0.007$</p>

Ware, J.S. et al. *J Am Coll Cardiol.* 2018;71(20):2293–302.

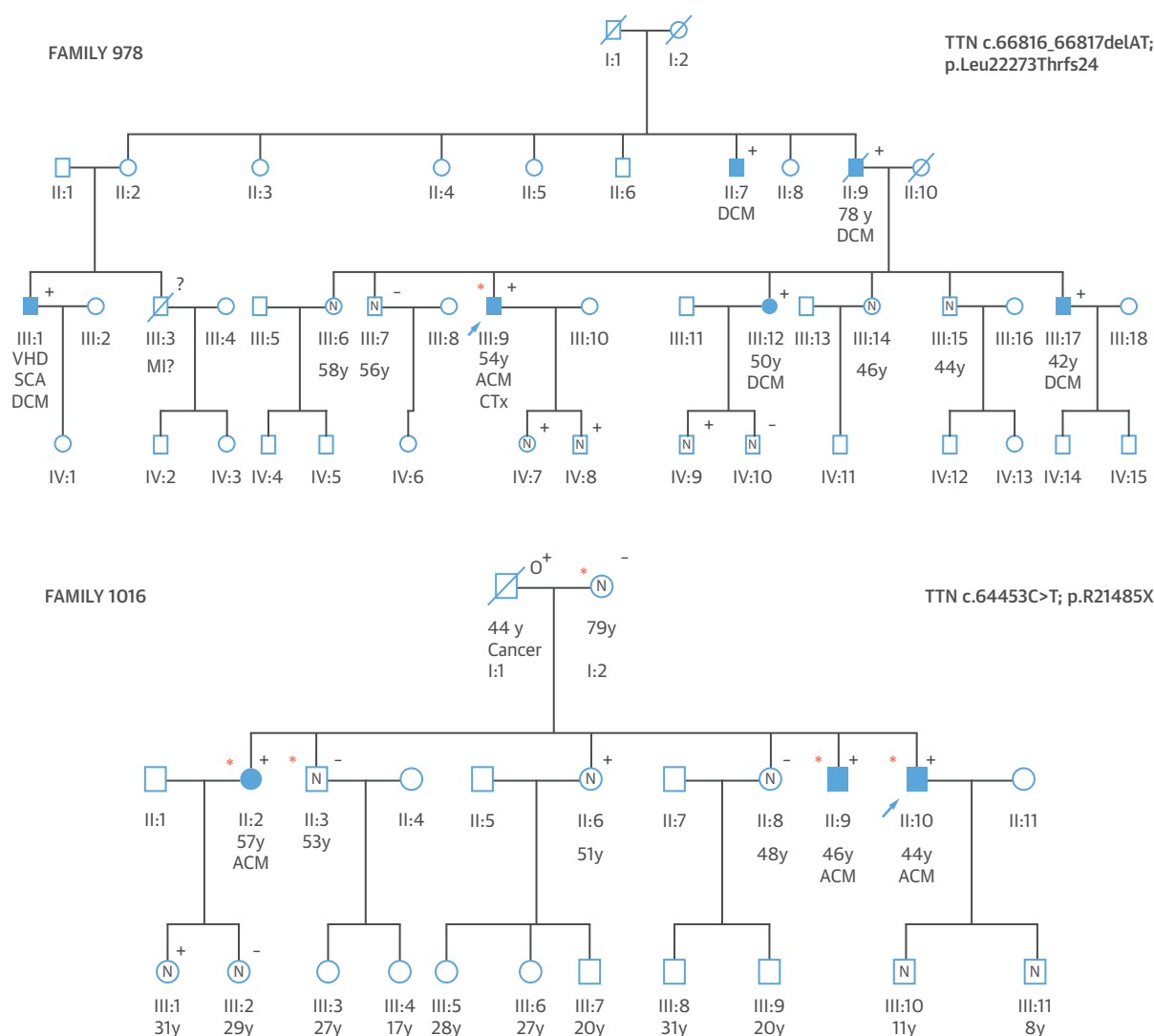
ACM patients exhibit a higher prevalence of rare variants in DCM-associated genes than control subjects. In DCM patients, neither the presence of a TTNtv nor excess alcohol consumption had a significant effect on baseline LVEF in isolation, but the combination was associated with a significantly lower baseline LVEF. Values shown are absolute ejection fraction in each group. The p value is derived from multivariate analysis. ACM = alcoholic cardiomyopathy; DCM = dilated cardiomyopathy; LVEF = left ventricular ejection fraction; TTNtv = titin truncating variant.

typical DCM: cases with a TTNtv and excess alcohol consumption have a markedly reduced LVEF compared with those with low alcohol intake. Taken together, these 2 lines of evidence both support a model whereby alcohol and cardiac genotype interact, contributing both to the development of ACM and to disease severity in the context of DCM (**Central Illustration**). Although we acknowledge that many factors may contribute to the development of ACM, we identified an illustrative family where alcohol abuse and TTNtv were present in multiple relatives and probably acted in conjunction to promote disease expressivity in certain family members. In this pedigree, all 3 affected individuals both carried the TTNtv and reported prolonged heavy alcohol consumption, whereas 2 individuals who reported prolonged heavy alcohol consumption without the TTNtv and 3 individuals with the TTNtv but without excess alcohol consumption were all free from DCM (**Figure 3**).

There is still much to understand. The molecular mechanisms underlying ACM are not fully understood, and this study only explores some of the genetic factors that may influence susceptibility to cardiomyopathy on exposure to alcohol. Although there is strong evidence for an interaction between alcohol and TTNtv, there is much more to learn about the mechanisms underlying the variable penetrance of TTNtv. In some families with DCM, TTNtv appear highly penetrant and sufficient to cause disease in isolation, but TTNtv are also seen in approximately 1% of the general population (12), a level well above the prevalence of DCM and suggesting that other genetic or environmental factors contribute to the cardiomyopathic process (27).

The overall effect of alcohol on the occurrence of DCM is also difficult to assess, but previous reports have suggested that it may be involved in as many as 47% of cases (6), and a recent population-based study

FIGURE 3 Family Pedigrees Illustrating Coexistence of ACM and DCM and the Combined Effect of Excessive Alcohol Consumption and Genetic Background



(Top) Family 978: coexistence of ACM and DCM. The proband (**arrow**) was diagnosed with ACM and underwent cardiac transplantation. When genetic and clinical familial evaluation was performed, multiple individuals without excessive alcohol consumption were diagnosed with DCM and found to carry TTN truncating variants.

(Bottom) Family 1016: combined effect of excessive alcohol consumption and genetic background. The proband (**arrow**) was diagnosed with ACM at age 44 years and was identified as carrying a TTNtv variant (TTN c.64453C>T; p.R21485X). One brother and 1 sister with prolonged heavy alcohol consumption (**red asterisk**) and TTNtv also show ACM. Two family members with TTNtv but no regular alcohol intake, and 2 individuals with prolonged heavy alcohol consumption but without TTNtv, did not show cardiac involvement. Standard pedigree notation is used: **squares and circles** indicate male and female subjects, respectively, a **strike-through** indicates a deceased individual, an **arrow** indicates the proband in each family, and **filled symbols** indicate affected individuals with ACM or DCM. **Symbols containing an N** represent individuals confirmed as unaffected. +/– symbols indicate genetic evaluation: + indicates carry TTNtv; – are noncarriers, o+ are obligate carriers. **Red asterisks** indicate cases with documented prolonged heavy alcohol consumption. CTx = cardiac transplant; DCM = dilated cardiomyopathy; MI = myocardial infarction; SCA = sudden cardiac arrest; VHD = valvular heart disease; other abbreviations as in [Figure 1](#).

of >1.9 million U.K. individuals showed that 8.4% recorded drinking above the recommended safe levels (28). If this accurately reflects the proportion of the population with above-recommended alcohol intake, then we see a significantly higher exposure in our nonalcoholic DCM population (111 of 716 = 15.5%, $p_{\text{binomial}} = 5 \times 10^{-10}$). Together, these data suggest that alcohol alone, as well as in combination with

genetic factors, may account for a substantial proportion of disease risk.

Additional environmental factors that may act in concert with TTNtv include viral myocarditis (29), nutritional deficiencies (30), recreational drug use (31), and certain drugs (32). Our data therefore also have wider potential implications both for lifestyle choices and for exploring the potential interaction of genetics with other environmental factors.

ACM has a poor prognosis, although somewhat better than DCM overall (2,3). In the ACM cohort studied here, of the 139 cases with outcome data, 62 (44.6%) showed functional recovery following heart failure therapy and reduction in alcohol, 52 (37.4%) remained stable but without functional recovery, and 25 (17.9%) died or received a cardiac transplant, in agreement with recent studies (3,16). We saw no difference between TTNtv and non-TTNtv cases with respect to outcome, with equivalent proportions showing improved cardiac function (50.0% vs. 45.8%, respectively) (Table 3), indicating that the presence of a TTNtv does not of itself preclude recovery. Functional recovery in DCM resulting from TTNtv has been previously reported both in severe end-stage failure requiring LVAD support (33) and in milder cases following medical therapy (34). Likewise, we observed no difference in survival analysis (freedom from death or cardiac transplantation) between TTNtv+ and TTNtv– groups.

STUDY LIMITATIONS. First, in the absence of a cohort with prolonged and heavy alcohol consumption but no cardiomyopathy, our comparison of ACM and healthy volunteers cannot formally exclude the possibility that TTNtv are associated with increased alcohol consumption, rather than the development of ACM on exposure to alcohol. However, this would seem highly unlikely and cannot explain the observed interaction between excess alcohol consumption and TTNtv as predictors of severity in an independent DCM cohort. Second, one might postulate that the individuals with coincident ACM and TTNtv simply represent conventional familial DCM: because prolonged heavy alcohol consumption is not uncommon in the population, a proportion of DCM cases will be exposed; thus, the TTNtv could be the causative driver, and the alcohol consumption a coincidental bystander. However, the positive cardiac response on reduction or cessation of alcohol points to an

etiological role of alcohol in the disease process, and the observed synergistic interaction between genetic predisposition and environmental toxin in the DCM cohort once again points to a biological interaction.

Third, although the association between aggregated rare variation in this gene set and ACM can be robustly interpreted as demonstrating an etiological role, the interpretation of specific variants in individual patients often remains uncertain. Improvement in clinical variant interpretation would substantially improve the utility of genetic testing in cardiomyopathies more widely. We also restricted our analysis to robustly validated DCM genes with a published excess of rare variants in DCM compared with control subjects. We acknowledge that rare variants in other genes that might have a role in DCM may make a further contribution to a genetic predisposition to ACM.

Finally, self-reported alcohol consumption lacks precision and is likely under-reported, which, together with modest cohort size, limits our power to detect modest effect sizes on phenotype and outcome, to evaluate the contribution of genes that are more rarely variant, and to fully dissect the interactions between genetic and environmental influences.

CONCLUSIONS

We have shown that TTNtv represent an important genetic predisposition to ACM, and that the combination of TTNtv and excess alcohol consumption is associated with worse LVEF in DCM patients. These findings support a model whereby alcohol and other environmental factors interact with genotype to determine the cardiac phenotype. Furthermore, based on our findings, familial evaluation and genetic testing should be considered in patients presenting with ACM.

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE: Dr. Pablo Garcia-Pavia, Department of Cardiology, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Manuel de Falla 2, Majadahonda, Madrid 28222, Spain. E-mail: pablogpavia@yahoo.es. OR Dr. Paul J. Barton, Cardiovascular Research Centre, Royal Brompton and Harefield NHS Foundation Trust and Imperial College London, London SW3 6NP, United Kingdom. E-mail: p.barton@imperial.ac.uk.

PERSPECTIVES

COMPETENCY IN MEDICAL KNOWLEDGE: Variants in DCM-associated genes are more frequent in patients with ACM than in the general population, and patients with DCM and TTNTv who drink alcohol excessively are more prone to decline in LVEF than those who drink less or lack these genetic variants.

TRANSLATIONAL OUTLOOK: Further studies are needed to understand how family history and genetic testing can be used to identify patients at risk of developing ACM, and effectively employed in counseling and other psychosocial interventions to reduce the incidence of this form of DCM.

REFERENCES

- Urbano-Marquez A, Estruch R, Navarro-Lopez F, Grau JM, Mont L, Rubin E. The effects of alcoholism on skeletal and cardiac muscle. *N Engl J Med* 1989;320:409-15.
- Fernandez-Sola J. Cardiovascular risks and benefits of moderate and heavy alcohol consumption. *Nat Rev Cardiol* 2015;12:576-87.
- Guzzo-Merello G, Segovia J, Dominguez F, et al. Natural history and prognostic factors in alcoholic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol HF* 2015;3:78-86.
- George A, Figueredo VM. Alcoholic cardiomyopathy: a review. *J Card Fail* 2011;17:844-9.
- Xi B, Veeranki SP, Zhao M, Ma C, Yan Y, Mi J. Relationship of alcohol consumption to all-cause, cardiovascular, and cancer-related mortality in U.S. adults. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:913-22.
- Guzzo-Merello G, Cobo-Marcos M, Gallego-Delgado M, Garcia-Pavia P. Alcoholic cardiomyopathy. *World J Cardiol* 2014;6:771-81.
- Fernandez-Sola J, Nicolas JM, Oriola J, et al. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is associated with vulnerability to alcoholic cardiomyopathy. *Ann Intern Med* 2002;137:321-6.
- Teragaki M, Takeuchi K, Toda I, et al. Point mutations in mitochondrial DNA of patients with alcoholic cardiomyopathy. *Heart Vessels* 2000;15:172-5.
- Guzzo-Merello G, Dominguez F, Gonzalez-Lopez E, et al. Malignant ventricular arrhythmias in alcoholic cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2015;199:99-105.
- Hershberger RE, Hedges DJ, Morales A. Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture. *Nat Rev Cardiol* 2013;10:531-47.
- Herman DS, Lam L, Taylor MR, et al. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2012;366:619-28.
- Roberts AM, Ware JS, Herman DS, et al. Integrated allelic, transcriptional, and phenomic dissection of the cardiac effects of titin truncations in health and disease. *Sci Transl Med* 2015;7:270ra6.
- Tayal U, Prasad S, Cook SA. Genetics and genomics of dilated cardiomyopathy and systolic heart failure. *Genome Med* 2017;9:20.
- Ware JS, Li J, Mazaika E, et al. Shared genetic predisposition in peripartum and dilated cardiomyopathies. *N Engl J Med* 2016;374:233-41.
- Schafer S, de Marvao A, Adami E, et al. Titin-truncating variants affect heart function in disease cohorts and the general population. *Nat Genet* 2017;49:46-53.
- Amor-Salamanca A, Guzzo-Merello G, Gonzalez-Lopez E, et al. Prognostic impact and predictors of ejection fraction recovery in patients with alcoholic cardiomyopathy. *Rev Esp Cardiol* 2018 Feb 8 [E-pub ahead of print].
- Tayal U, Newsome S, Buchan R, et al. Integrated analysis of the phenotype and clinical outcomes of Titin cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:2264-74.
- Maceira AM, Prasad SK, Khan M, Pennell DJ. Normalized left ventricular systolic and diastolic function by steady state free precession cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson* 2006;8:417-26.
- Pua CJ, Bhalshankar J, Miao K, et al. Development of a comprehensive sequencing assay for inherited cardiac condition genes. *J Cardiovasc Transl Res* 2016;9:3-11.
- Whiffin N, Minikel E, Walsh R, et al. Using high-resolution variant frequencies to empower clinical genome interpretation. *Genet Med* 2017;19:1151-8.
- Walsh R, Thomson KL, Ware JS, et al. Reassessment of Mendelian gene pathogenicity using 7,855 cardiomyopathy cases and 60,706 reference samples. *Genet Med* 2017;19:192-203.
- Committee HoCSaT. Alcohol guidelines: Eleventh Report of Session 2010-12: UK Parliament, 2012.
- Royal Colleges of Physicians, Psychiatrists and General Practitioners. Alcohol and the Heart in Perspective: Sensible Limits Reaffirmed. London: Royal Colleges of Physicians, 1995.
- ImperialCardioGenetics/ACM. Available at: <https://github.com/ImperialCardioGenetics/ACM>. Accessed April 15, 2018.
- Chami N, Tadmor R, Lemarbre F, et al. Nonsense mutations in BAG3 are associated with early-onset dilated cardiomyopathy in French Canadians. *Can J Cardiol* 2014;30:1655-61.
- Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17:405-24.
- Ware JS, Cook SA. Role of titin in cardiomyopathy: from DNA variants to patient stratification. *Nat Rev Cardiol* 2018;15:241-52.
- Bell S, Daskalopoulou M, Rapsomaniki E, et al. Association between clinically recorded alcohol consumption and initial presentation of 12 cardiovascular diseases: population based cohort study using linked health records. *BMJ* 2017;356:j909.
- Belkaya S, Kontorovich AR, Byun M, et al. Autosomal recessive cardiomyopathy presenting as acute myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 2017;69:1653-65.
- Marinescu V, McCullough PA. Nutritional and micronutrient determinants of idiopathic dilated cardiomyopathy: diagnostic and therapeutic implications. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2011;9:1161-70.
- Frustaci A, Russo MA, Morgante E, et al. Oxidative myocardial damage in human cocaine-related cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail* 2015;17:283-90.
- Chang HM, Okwuosa TM, Scarabelli T, et al. Cardiovascular complications of cancer therapy: best practices in diagnosis, prevention, and management: part 2. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:2552-65.
- Felkin LE, Walsh R, Ware JS, et al. Recovery of cardiac function in cardiomyopathy caused by titin truncation. *JAMA Cardiol* 2016;1:234-5.
- Jansweijer JA, Nieuwhof K, Russo F, et al. Truncating titin mutations are associated with a mild and treatable form of dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail* 2017;19:512-21.

KEY WORDS alcohol, dilated cardiomyopathy, genetics, titin, variant

APPENDIX For an expanded Methods section as well as a supplemental figure and tables, please see the online version of this paper.

Artículo original

Impacto pronóstico y factores predictores de la recuperación de la fracción de eyección en pacientes con miocardiopatía dilatada alcohólica



Almudena Amor-Salamanca^{a,◇}, Gonzalo Guzzo-Merello^{a,b,◇}, Esther González-López^{a,c}, Fernando Domínguez^{a,c}, Alejandra Restrepo-Córdoba^a, Marta Cobo-Marcos^{a,c}, Manuel Gómez-Bueno^{a,c}, Javier Segovia-Cubero^{a,c}, Luis Alonso-Pulpón^{a,c} y Pablo García-Pavía^{a,c,d,*}

^a Unidad de Insuficiencia Cardíaca y Cardiopatías Familiares, Servicio de Cardiología, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid, España

^b Servicio de Cardiología, Hospital General de Villalba, Villalba, Madrid, España

^c CIBER Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), Madrid, España

^d Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Francisco de Vitoria, Pozuelo de Alarcón, Madrid, España

Historia del artículo:

Recibido el 26 de agosto de 2017

Aceptado el 20 de noviembre de 2017

On-line el 7 de febrero de 2018

Palabras clave:

Alcohol
Miocardiopatía alcohólica
Miocardiopatía dilatada
Pronóstico
Fracción de eyección del ventrículo izquierdo

RESUMEN

Introducción y objetivos: La recuperación de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) está descrita en la miocardiopatía alcohólica (MCA) tras la abstinencia alcohólica. Sin embargo, se desconoce el impacto pronóstico de esta recuperación y los factores con que se asocia. El objetivo es definir el papel pronóstico a largo plazo de la mejoría de la FEVI en la MCA e identificar sus predictores.

Métodos: Se evaluó a 101 pacientes con MCA, con una mediana de seguimiento de 82 [intervalo intercuartílico, 36-134] meses.

Resultados: Al final del seguimiento, 42 pacientes (42%) mostraron una recuperación significativa de la FEVI, definida como un incremento absoluto $\geq 10\%$ y FEVI final $\geq 40\%$. Estos pacientes mostraron mejor pronóstico que aquellos sin recuperación de la FEVI (trasplante cardíaco o muerte cardiovascular, el 1 frente al 30%; $p < 0,001$). La duración del QRS < 120 ms (OR = 6,68; IC95%, 2,30-19,41), el tratamiento bloqueador beta (OR = 3,01; IC95%, 1,09-8,28) y no necesitar diuréticos (OR = 3,35; IC95%, 1,08-10,42) predijeron la recuperación de la FEVI en el análisis multivariable. Aunque el cese del consumo de alcohol no fue predictor, ninguno de los pacientes ($n = 6$) que mantuvieron un consumo excesivo recuperó la FEVI. Entre los abstemios y quienes mantuvieron un consumo moderado, hubo similar número de pacientes que recuperaron la FEVI (el 44 frente al 45%; $p = 0,9$).

Conclusiones: La recuperación de la FEVI se asocia con un excelente pronóstico en la MCA. El tratamiento con bloqueadores beta, un QRS < 120 ms y no tomar diuréticos son predictores independientes de esta recuperación. La recuperación de la FEVI es similar entre bebedores moderados y abstemios.

© 2017 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Prognostic Impact and Predictors of Ejection Fraction Recovery in Patients With Alcoholic Cardiomyopathy

ABSTRACT

Introduction and objectives: Recovery of left ventricular ejection fraction (LVEF) has been described in alcoholic cardiomyopathy (ACM) after a period of alcohol withdrawal. Nevertheless, the prognostic impact of LVEF recovery in ACM and its determinants have not been studied. We sought to define the role of LVEF improvement in the long-term outcome of ACM and to identify predictors of LVEF recovery in these patients.

Methods: We evaluated 101 ACM patients during a median follow-up period of 82 months [interquartile range 36-134].

Results: At latest follow-up, 42 patients (42%) showed substantial LVEF recovery defined as an absolute increase in LVEF $\geq 10\%$ to a final value of $\geq 40\%$. Patients who recovered LVEF had better outcomes than patients who did not (heart transplant or cardiovascular death 1% vs 30%; $P < .001$). A QRS with < 120 ms (OR, 6.68; 95%CI, 2.30-19.41), beta-blocker therapy (OR, 3.01; 95%CI, 1.09-8.28), and the absence of diuretics (OR, 3.35; 95%CI, 1.08-10.42) predicted LVEF recovery in multivariate analysis. Although alcohol cessation did not predict LVEF recovery, none of the patients ($n = 6$) who persisted with heavy alcohol consumption recovered LVEF. The rate of patients who recovered LVEF did not differ between abstainers and moderate drinkers (44% vs 45%; $P = .9$).

VÉASE CONTENIDO RELACIONADO:

<https://doi.org/10.1016/j.recresp.2017.12.023>

* Autor para correspondencia: Servicio de Cardiología, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Manuel de Falla 2, 28222 Majadahonda, Madrid, España. Correo electrónico: pablogpavia@yahoo.es (P. García-Pavía).

◇ Ambos autores han contribuido por igual al artículo como primeros autores.

<https://doi.org/10.1016/j.recresp.2017.11.021>

0300-8932/© 2017 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Conclusions: The LVEF recovery is associated with an excellent prognosis in ACM. Beta-blocker treatment, QRS < 120 ms and absence of diuretics are independent predictors of LVEF recovery. LVEF recovery is similar in moderate drinkers and abstainers.

Full English text available from: www.revespcardiol.org/en

© 2017 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Abreviaturas

DAI: desfibrilador automático implantable
FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo
MCA: miocardiopatía alcohólica
MCD: miocardiopatía dilatada

INTRODUCCIÓN

La ingesta excesiva de alcohol es una causa frecuente de miocardiopatía dilatada (MCD) y se ha implicado hasta en un 40% de los casos de MCD idiopática^{1–5}. De manera similar a otras formas de MCD, la miocardiopatía alcohólica (MCA) se caracteriza por un ventrículo izquierdo dilatado y una reducción de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI)⁶. Su diagnóstico sigue siendo de exclusión en un paciente con MCD y una historia prolongada de abuso de alcohol (clásicamente, > 80 g de alcohol al día durante más de 5 años)^{6,7}.

Los efectos depresores del alcohol en el organismo se conocen ampliamente desde hace siglos⁸. Sin embargo, los mecanismos de lesión miocárdica por los que actúa el alcohol son aún motivo de estudio^{9–11}. El evento inicial parece ser la pérdida de miocardiocitos, ya sea por apoptosis o por necrosis; sin embargo, los hallazgos histológicos (fibrosis intersticial, infiltrados inflamatorios, aumento de los depósitos de ácidos grasos y desproporción relativa de las distintas proteínas sarcoméricas) no difieren de los de otros tipos de MCD.

A pesar de su importancia clínica y epidemiológica, solo un pequeño número de trabajos han investigado la historia natural y los factores pronósticos de la MCA^{1–5,11,12}. Aunque varias series de casos han documentado la recuperación de la FEVI después de un periodo de abstinencia alcohólica, el impacto pronóstico que tiene la recuperación de la función cardíaca en pacientes con MCA nunca se han analizado. Además, existen datos contradictorios en cuanto a si la abstinencia completa de alcohol es necesaria para mejorar la FEVI. Varias series publicadas hace casi 20 años identificaron la abstinencia alcohólica como el principal predictor de la recuperación de la FEVI en MCA^{1–4}, pero estos datos son controvertidos porque las series clásicas que relacionaron la recuperación de la FEVI con el abandono del alcohol incluyeron en el grupo de abstemios a pacientes que redujeron la ingesta de alcohol a cantidades moderadas^{1,2} y porque también se ha descrito que los pacientes con MCA que reducen la ingesta de alcohol a moderada (< 60 g/día) mejoran la FEVI en grado similar que los pacientes abstemios¹³. Además, un estudio reciente de nuestro grupo¹², en el que la mayoría de los pacientes estaban en tratamiento estándar contemporáneo para la insuficiencia cardíaca, mostró similares pronósticos clínicos en pacientes abstemios y con ingesta de alcohol reducida a moderada. En este trabajo previo de nuestro grupo sobre el tema¹², se identificaron factores pronósticos asociados con muerte cardiovascular/trasplante cardíaco; además se describió que un tercio de los pacientes con MCA mostraban mejoría de la FEVI, pero no se estudió el impacto pronóstico que la recuperación de la FEVI tenía en el resultado a largo plazo de

la MCA ni qué factores se asociaban con la recuperación de la FEVI.

Aparte de describirse la evolución de la FEVI tras el abandono del alcohol, ningún estudio ha evaluado hasta ahora si otros factores distintos de la abstinencia alcohólica se asocian con la recuperación de la FEVI. Que se pueda predecir la recuperación de la FEVI en MCA tiene implicaciones clínicas importantes, especialmente a la hora de decidir el implante de desfibriladores automáticos implantables (DAI) y la derivación adecuada de estos pacientes para trasplante¹⁴. El implante de DAI es un tema de particular interés en MCA, ya que estos pacientes tienen más riesgo de arritmias ventriculares¹⁵.

El objetivo del presente estudio es definir el papel que la mejoría de la FEVI tiene en el resultado a largo plazo de una serie contemporánea de pacientes con MCA, e identificar los factores que predicen la recuperación de la FEVI en esta enfermedad.

MÉTODOS

Se recogieron los datos de todos los pacientes consecutivos con MCA enviados para evaluación a las unidades de insuficiencia cardíaca y trasplante cardíaco del Hospital Universitario Puerta de Hierro en Madrid desde enero de 1993 a diciembre de 2015 (cohorte prospectiva de pacientes con análisis retrospectivo). El estudio fue aprobado por el comité ético del hospital y se ajusta a los principios de la Declaración de Helsinki. Se consideró que un paciente cumplía criterios de MCA si tenía MCD idiopática y reconocía un consumo de alcohol excesivo y prolongado. El consumo excesivo de alcohol se definió como la historia referida por el paciente de ingesta de alcohol > 80 g al día durante un periodo de al menos 5 años, como se ha recogido clásicamente en la mayoría de las series de MCA publicadas^{1–4,6,7,12}. El abuso de alcohol debía estar presente hasta al menos 3 meses antes del diagnóstico de MCA.

Aunque no se realizó un programa específico de deshabituación alcohólica, se recomendó la abstinencia completa de alcohol a todos los pacientes con MCA. Las enzimas hepáticas se midieron durante el seguimiento (ALT inicial y final, $83,8 \pm 217,7$ y $52,7 \pm 92,6$; AST inicial y final, $27,09 \pm 14,4$ y $27,69 \pm 16,8$). Durante el seguimiento, los pacientes se clasificaron como abstemios si se había abandonado completamente el consumo de alcohol, como bebedores moderados si se había reducido el consumo a < 80 g/día y como bebedores persistentes si se continuaba con el abuso de alcohol (> 80 g/día). Aunque la mayoría de los pacientes del grupo de bebedores moderados redujeron el consumo de alcohol a < 20 g/día, se decidió incluir a todos los individuos que redujeron el consumo a < 80 g/día en el grupo de bebedores moderados en consonancia con estudios previos^{1–4,6,7,12}.

Se incluyó en la evaluación inicial de todos los pacientes al menos examen físico, análisis de sangre, electrocardiograma de 12 derivaciones y ecocardiograma. Todos los ecocardiogramas se realizaron en el Hospital Universitario Puerta de Hierro siguiendo las recomendaciones estándares¹⁶. Se realizaron exploraciones invasivas y pronósticas sucesivas a los pacientes según se necesitaron. No se realizaron evaluaciones ecocardiográficas sucesivas a intervalos fijos, pero en la mayoría de los pacientes

se realizó al menos 1 ecocardiograma al año. Se realizó a todos los pacientes angiografía coronaria/tomografía computarizada para descartar enfermedad coronaria, excepto en 1 caso (varón de 30 años sin factores de riesgo coronario que completó una prueba de esfuerzo normal).

El estudio se iniciaba tras completar la evaluación inicial y finalizaba en el último seguimiento disponible o tras la muerte o el trasplante. Se siguió a todos los pacientes en el centro de manera regular (al menos 1 vez al año), y se los trasladaba al hospital de referencia en caso de recuperación completa de la FEVI estable (> 3 años). La información sobre el estado final de cada paciente en diciembre de 2015 se obtuvo de su historia médica o mediante contacto telefónico con el paciente o su médico de referencia.

Se registró la evolución de la FEVI, la muerte y el trasplante cardíaco. La causa de la muerte se clasificó en causada por insuficiencia cardíaca, muerte súbita cardíaca o de causa no cardíaca. La recuperación significativa de la función cardíaca se definió como un aumento absoluto de la FEVI $\geq 10\%$ hasta un valor de FEVI $\geq 40\%$ al final del seguimiento.

Análisis estadístico

Las variables categóricas se expresan como porcentajes y se comparan utilizando la prueba de la χ^2 y la prueba exacta de Fisher. Las variables con distribución normal se expresan como media \pm desviación estándar, mientras que las de distribución no normal se expresan como mediana [intervalo intercuartílico]. Para el análisis estadístico se utilizaron la prueba de la t de Student, la prueba de la U de Mann-Whitney, el análisis de varianza y el test de Tukey.

Para predecir la «recuperación significativa de la FEVI» a partir de las variables basales, se realizó inicialmente un análisis univariable de todos los parámetros obtenidos en el reclutamiento. Los criterios para introducir variables en el modelo predictivo multivariable fueron la relevancia clínica y la significación estadística en el análisis univariable. Así, la abstinencia alcohólica y las variables con $p < 0,05$ en el análisis univariable se introdujeron en un análisis de regresión logística multivariable para identificar predictores independientes de recuperación significativa de la FEVI.

La construcción del modelo se realizó mediante una selección retrógrada. Para la evaluación se utilizaron el área bajo la curva y la prueba de Hosmer-Lemeshow. El nivel de significación estadística fue $p < 0,05$. El análisis se realizó utilizando el programa STATA, versión 14.0 (StataCorp; College Station, Texas, Estados Unidos).

RESULTADOS

Se incluyó en total a 101 pacientes con MCA (100 varones; 50 ± 10 años; FEVI, $26 \pm 9\%$; el 68% en clase funcional de la *New York Heart Association* III-IV). Se evaluó a los pacientes por primera vez en el centro durante una hospitalización o en consulta ambulatoria. Las características clínicas basales, electrocardiográficas, ecocardiográficas y terapéuticas de los pacientes se muestran en la [tabla 1](#).

En la evaluación inicial, todos los pacientes reconocieron un consumo de alcohol > 80 g/día durante más de 5 años. Durante el seguimiento, el 63% se declaró abstemio, un 31% continuó consumiendo alcohol, pero con una ingesta < 80 g/día, y solo el 6% continuó con un consumo de alcohol superior a esta cifra.

Durante una mediana de seguimiento de 82 [36-134] meses, 21 pacientes con MCA (21%) fallecieron: 8 debido a insuficiencia cardíaca progresiva, 7 por muerte súbita cardíaca, 1 por infarto de

Tabla 1

Características clínicas, electrocardiográficas y ecocardiográficas en la evaluación inicial de 101 pacientes con miocardiopatía alcohólica

	MCA (n = 101)
<i>Edad al diagnóstico (años)</i>	$50,1 \pm 9,8$
<i>Sexo</i>	
Varones (n)	100
Mujeres (n)	1
<i>Clase funcional de la NYHA basal (%)</i>	
I	5
II	26,7
III	40,6
IV	27,7
<i>Comorbilidades (%)</i>	
Hipertensión	37,6
Dislipemia	32,7
Diabetes	23,8
Tabaquismo	53,5
EPOC	31,7
<i>Presión arterial y frecuencia cardíaca</i>	
Presión arterial sistólica (mmHg)	120 ± 20
Presión arterial diastólica (mmHg)	78 ± 16
Frecuencia cardíaca (lat/min)	91 ± 24
<i>Parámetros sanguíneos</i>	
Hemoglobina (g/dl)	$14,5 \pm 1$
Creatinina (mg/dl)	$1,2 \pm 0,3$
ALT (U/l)	$83,8 \pm 217,7$
AST (U/l)	$52,7 \pm 92,6$
<i>ECG (%)</i>	
Ritmo sinusal	62,4
Fibrilación auricular	37,6
QRS ≥ 120 ms	37,6
BRI	32,7
<i>Parámetros ecocardiográficos</i>	
FEVI (%)	26 ± 9
DD (mm)	$67,9 \pm 9,9$
<i>Tratamiento tras primera visita (%)</i>	
Digoxina	44,6
Diuréticos de asa	76,2
Espironolactona/eplerenona	51,5
Bloqueadores beta	60,4
IECA/ARA-II	93,1
Amiodarona	18,8
DAI	36,6
Resincronizador	19,8

ALT: alanina aminotransferasa; ARA-II: antagonistas del receptor de la angiotensina II; AST: aminotransferasa; BRI: bloqueo de rama izquierda; DAI: desfibrilador automático implantable; DD: diámetro diastólico; ECG: electrocardiograma; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; IECA: inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina; MCA: miocardiopatía alcohólica; NYHA: *New York Heart Association*.

Salvo otra indicación, los valores expresan media \pm desviación estándar.

miocardio y 5 por causas no cardíacas ([figura 1A](#)). La media de seguimiento hasta la muerte fue de 74,5 [3,2-137,4] meses. En total, 15 pacientes con MCA (15%) recibieron trasplante cardíaco (3 urgentes y 12 electivos), tras una media de seguimiento hasta el trasplante de 30,6 [2,4-63,7] meses. Seis pacientes (6%) presentaron una fibrilación ventricular documentada. Durante el seguimiento, se implantó un DAI a 37 pacientes, y 20 recibieron terapia de resincronización cardíaca.

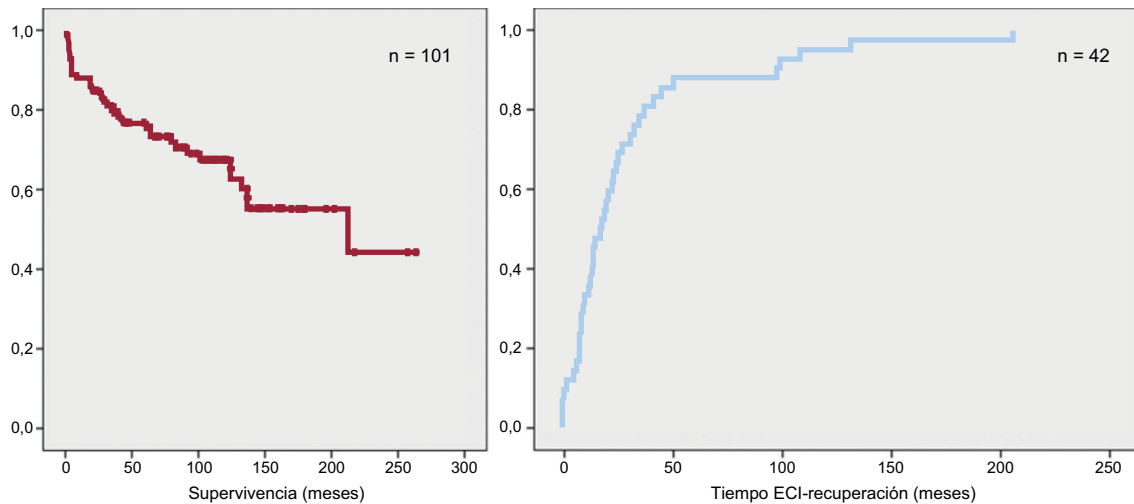


Figura 1. A: supervivencia libre de muerte o trasplante de los 101 pacientes con miocardiopatía dilatada alcohólica. B: tiempo desde la evaluación cardiaca inicial hasta la recuperación significativa de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo de los pacientes con miocardiopatía alcohólica y recuperación significativa de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo ($n = 42$). ECI: evaluación cardiaca inicial.

Los datos sobre la evolución de la FEVI estaban disponibles en todos los casos, aunque 6 pacientes murieron poco después de la evaluación inicial (< 3 meses). En el último seguimiento, 42 pacientes (42%) mostraron una recuperación cardiaca significativa, definida como un aumento absoluto de la FEVI $\geq 10\%$ hasta un valor final $\geq 40\%$ en el último seguimiento. Entre el cese del consumo alcohólico y la recuperación de la FEVI de los pacientes en que se produce, transcurrió un media de 28 [9,6-30,9] meses. El 60% de los pacientes que recuperaron la FEVI alcanzaron el criterio de recuperación significativa a los 2 años de la evaluación cardiaca inicial en el centro (figura 1B).

Los pacientes con MCA que alcanzaron una recuperación significativa de la FEVI tuvieron mejor evolución clínica que aquellos que no la alcanzaron, con tasas de mortalidad más bajas (el 3 frente al 18%; $p = 0,005$), muerte cardiovascular (el 1 frente al 15%; $p = 0,002$) y trasplante cardiaco (0 frente al 15%; $p < 0,0001$) (figura 2). Entre los pacientes con MCA y recuperación

significativa de la FEVI, solo 3 tuvieron eventos adversos durante el seguimiento: un paciente falleció debido a un cáncer, otro murió tras un infarto de miocardio y un tercero tuvo un ictus.

Las características clínicas, ecocardiográficas, electrocardiográficas y terapéuticas de los pacientes con y sin recuperación significativa de la FEVI se comparan en la tabla 2.

Los factores asociados con la recuperación significativa de la FEVI fueron el uso de bloqueadores beta, un diámetro diastólico del ventrículo izquierdo más pequeño, una anchura de QRS < 120 ms y la ausencia de bloqueo de rama izquierda o de tratamiento con diuréticos.

Los únicos predictores independientes de recuperación cardiaca significativa en el análisis de regresión multivariable fueron una duración del QRS < 120 ms (*odds ratio* [OR] = 6,68; intervalo de confianza del 95% [IC95%], 2,30-19,41), el uso de bloqueadores beta (OR = 3,01; IC95%, 1,09-8,28) y la ausencia de tratamiento con diuréticos (OR = 3,35; IC95%, 1,08-10,42)

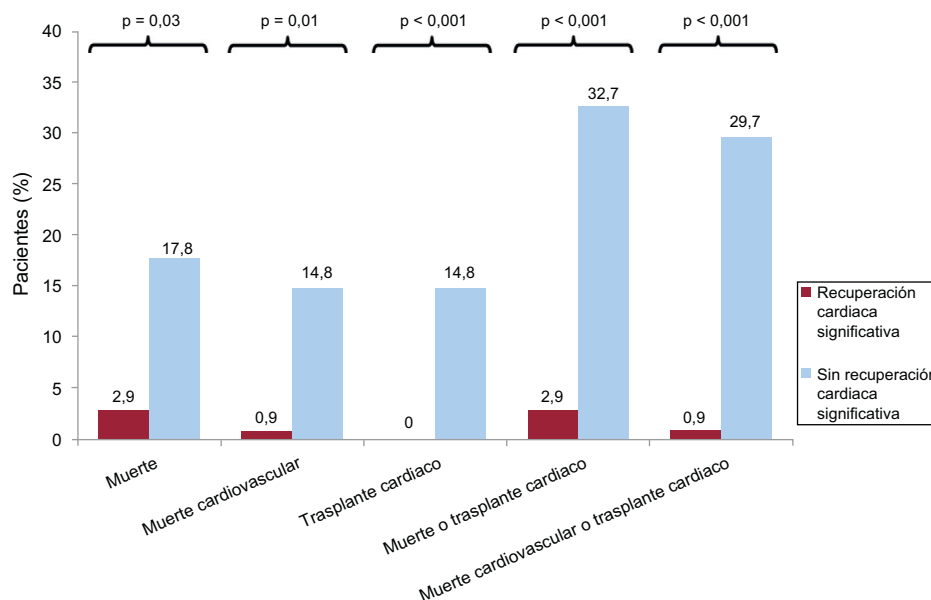


Figura 2. Pronóstico en función de la recuperación de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo. Comparación de eventos entre pacientes con miocardiopatía alcohólica que experimentaron una recuperación significativa de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo y el grupo en que no mejoró.

Tabla 2

Características ecocardiográficas, electrocardiográficas y terapéuticas de los pacientes con miocardiopatía alcohólica con y sin recuperación de la fracción de eyección

	Recuperación significativa de la FEVI (n = 42)	Recuperación no significativa de la FEVI (n = 59)	p
<i>Edad (años)</i>	49,7 ± 11	50,3 ± 9	0,88
<i>Sexo (%)</i>			0,40
Varones	100	98,3	
Mujeres	0,0	1,7	
<i>Clase funcional de la NYHA basal (%)</i>			0,14
I	9,5	1,7	
II	26,2	27,1	
III	31,0	47,5	
IV	33,3	23,7	
<i>Comorbilidades (%)</i>			
Hipertensión	40,5	35,6	0,62
Dislipemia	33,9	31,0	0,76
Diabetes	16,7	28,8	0,16
Tabaquismo	57,1	50,8	0,25
EPOC	26,2	35,6	0,32
<i>Presión arterial y frecuencia cardíaca</i>			
Presión arterial sistólica (mmHg)	124 ± 20	117 ± 19	0,12
Presión arterial diastólica (mmHg)	80 ± 17	76 ± 15	0,2
Frecuencia cardíaca (lat/min)	92 ± 29	91 ± 19	0,67
<i>Parámetros sanguíneos</i>			
Hemoglobina (g/dl)	14 ± 1,2	14 ± 1,6	0,73
Creatinina (mg/dl)	1,2 ± 0,28	1,3 ± 0,38	0,16
ALT (U/l)	64 ± 86	102 ± 291	0,15
AST (U/l)	45 ± 51	60 ± 120	0,44
<i>ECG</i>			
Fibrilación auricular (%)	31,0	42,4	0,24
QRS (ms)	100,7 ± 27,7	121,4 ± 29,5	< 0,001
QRS ≥ 120 ms	14,3	54,2	< 0,001
BRI	16,7	44,1	0,004
<i>Parámetros ecocardiográficos</i>			
DD (mm)	65 ± 8,6	69,9 ± 10,3	0,014
FEVI (%)	26,5 ± 9,0	25,2 ± 8,9	0,355
<i>Abstinencia alcohólica completa</i>	33,3	39,0	0,56
<i>Consumo de alcohol durante el seguimiento</i>			0,102
Abstinencia	66,7	61,0	
Consumo moderado	33,3	28,8	
Persistencia de consumo grave	0,0	10,2	
<i>Tratamiento (%)</i>			
Digoxina	33,3	52,5	0,056
Diuréticos del asa	64,3	84,7	0,017
Espironolactona/eplerenona	42,9	57,6	0,143
Bloqueadores beta	73,8	50,8	0,02
IECA/ARA-II	95,2	91,5	0,47
Amiodarona	19,0	18,6	0,96
Resincronizador	16,7	22,0	0,505

ALT: alanina aminotransferasa; ARA-II: antagonistas del receptor de la angiotensina II; AST: alanina aminotransferasa; BRI: bloqueo de rama izquierda; DD: diámetro diastólico; ECG: electrocardiograma; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; IECA: inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina; NYHA: *New York Heart Association*.

Salvo otra indicación, los valores expresan media ± desviación estándar.

(área bajo la curva = 0,78; IC95%, 0,69-0,87; prueba de bondad de ajuste, $p = 0,182$) (tabla 3).

Finalmente, ninguno de los pacientes que continuó con el consumo de alcohol > 80 g/día ($n = 6$) recuperó la FEVI. La tasa de recuperación significativa de la FEVI entre los bebedores persistentes y el grupo de pacientes con MCA que redujeron el

consumo de alcohol a moderado o lo abandonaron por completo fue muy diferente (0 frente a 44%; $p = 0,033$). Por el contrario, no se encontraron diferencias en la tasa de recuperación de la FEVI entre los pacientes con MCA que redujeron la ingesta de alcohol a < 80 g/día y los abstemios (el 45 frente al 44%; $p = 0,9$) (figura 3).

Tabla 3

Análisis de regresión multivariable que muestra los predictores independientes de recuperación de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo en miocardiopatía alcohólica

	OR (IC95%)	p	ABC (IC95%)	p
QRS < 120 ms	6,67 (2,29-19,40)	< 0,001		
Tratamiento bloqueador beta	3,01 (1,09-8,28)	0,032	0,78 (0,69-0,87)	0,001
Ausencia de diuréticos del asa	3,35 (1,08-10,42)	0,036		

ABC: área bajo la curva; IC95%: intervalo de confianza del 95%; OR: odds ratio.

Variables incluidas en el análisis de regresión múltiple: diámetro diastólico ($p=0,022$; incrementos de diámetro de 5 en 5 mm), bloqueo de rama izquierda ($p=0,004$), duración del QRS < 120 ms ($p=0,0001$), abstinencia alcohólica ($p=0,56$), tratamiento con bloqueadores beta ($p=0,02$) y ausencia de tratamiento con diuréticos del asa ($p=0,017$).

DISCUSIÓN

El presente estudio proporciona la primera evidencia científica del importante impacto clínico que la mejoría de la FEVI tiene en los pacientes con MCA.

Que se pueda predecir de manera adecuada la evolución de la MCA tiene importantes implicaciones clínicas, especialmente en cuanto al uso del DAI y el traslado de los pacientes con MCA a unidades de trasplante. Aunque varios trabajos descriptivos y series de casos habían descrito grandes recuperaciones de la FEVI entre los pacientes con MCA, ningún estudio había investigado previamente el impacto clínico que la mejoría de la FEVI tiene en el pronóstico a largo plazo de los pacientes con MCA^{1-3,13,17}. La información relativa a la FEVI disponible en estudios previos se restringía en su mayor parte a la descripción de su evolución según la ingesta de alcohol durante el seguimiento.

En el estudio de 2015 sobre la historia natural de la MCA¹², se informaba de que cerca de un tercio de los pacientes con MCA recuperaban la FEVI en la evolución, pero no se estudiaba el impacto pronóstico que la recuperación de la FEVI pudiera tener a largo plazo ni qué factores estaban implicados en esa recuperación. En el presente estudio se muestra que los pacientes que experimentan una recuperación cardiaca significativa (aumento absoluto de la FEVI $\geq 10\%$ hasta un valor final $\geq 40\%$) tienen excelentes resultados clínicos tras un seguimiento largo. Los pacientes con MCA que experimentaron una mejoría significativa de la FEVI tuvieron resultados claramente mejores que quienes no la mejoraron. Por otra parte, en el presente estudio, solo un paciente con MCA cuya FEVI mejoró significativamente sufrió una muerte de causa cardiaca, debida a un infarto de miocardio. Por lo tanto, se considera que la mejoría de la FEVI hasta este umbral se podría utilizar para predecir la evolución clínica de los pacientes con MCA y podría convertirse en un objetivo que alcanzar en la práctica clínica. Un estudio reciente de nuestro grupo¹⁵ que analizó la incidencia de arritmias ventriculares malignas en 94 pacientes

con MCA de esta serie (pacientes del periodo 1993-2011) también apuntaba en esta dirección: no se produjo ninguna muerte súbita cardiaca/descarga de DAI en pacientes con MCA cuando la FEVI era $\geq 40\%$. La identificación de qué pacientes con MCA tienen una alta probabilidad de mejorar su FEVI por encima de este umbral facilitaría la decisión de implantar un DAI.

Hasta la fecha, el único factor que se ha descrito asociado con la recuperación de la función sistólica descrito en MCA es la abstinencia alcohólica^{1-3,6,7}. Ninguna otra variable clínica se ha relacionado hasta la fecha con la mejora de la FEVI. Por otra parte, el papel del tratamiento actual para la insuficiencia cardiaca en la evolución de la FEVI en MCA es completamente desconocido, ya que la mayoría de los estudios anteriores se llevaron a cabo hace muchos años, cuando aún no estaban disponibles la mayoría de los medicamentos y dispositivos actualmente recomendados. En contraste con los estudios previos en el campo de la MCA¹⁻⁴, la mayoría de los pacientes recibieron tratamiento para la insuficiencia cardiaca de acuerdo con las recomendaciones actuales. En este sentido, más del 90% de los pacientes recibieron inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA)/antagonistas del receptor de la angiotensina II (ARA-II) tras la evaluación inicial, mientras que los pacientes que tomaban bloqueadores beta tras la primera visita fueron el 60% de toda la cohorte del estudio y > 80% de los pacientes evaluados después del año 2000 (el estudio CIBIS-II se publicó en 1999)¹⁸.

Varios estudios demostraron que el tratamiento médico óptimo tiene un impacto positivo en el remodelado del ventrículo izquierdo en MCD no seleccionadas y que la recuperación de la FEVI es un predictor independiente de buen pronóstico en estos pacientes^{19,20}.

En el presente estudio, una duración del QRS < 120 ms, el tratamiento con bloqueadores beta y la ausencia de tratamiento diurético fueron predictores independientes de recuperación significativa de la función cardiaca. Estos son factores pronósticos bien conocidos, ya identificados en otros estudios/registros de

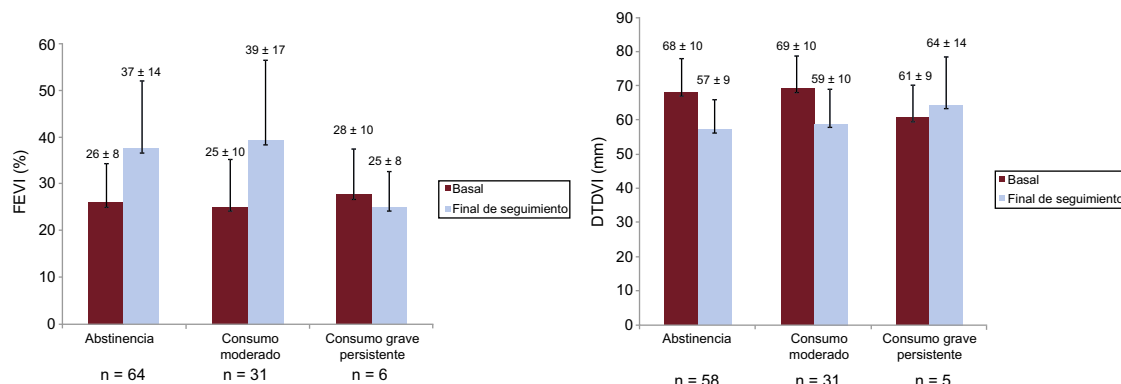


Figura 3. Evolución de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) y el diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo (DTDVI) según la ingesta de alcohol durante el seguimiento.

MCD^{18,21,22}. Los efectos beneficiosos de los bloqueadores beta y los IECA/ARA-II en la función cardiaca se demostraron previamente en diversos estudios de MCD^{23,24}. En este estudio el tratamiento con IECA/ARA-II no resultó ser predictor independiente de recuperación de la FEVI, probablemente porque casi todos los pacientes con MCA (93%) ya recibían estos medicamentos en la evaluación inicial. Sin embargo, los mejores resultados clínicos encontrados en los pacientes¹² comparados con los resultados indicados en los estudios de MCA realizados en la era prevasodilatadora¹⁻⁴ refuerzan el mensaje de que ambos fármacos (bloqueadores beta e IECA/ARA-II) deben prescribirse a todos los pacientes con MCA y probablemente a todos los pacientes con MCD independientemente del agente causal. Que la terapia diurética se identificara como un factor pronóstico negativo en la presente serie probablemente refleje la presencia de congestión y una enfermedad cardiaca más avanzada en la evaluación inicial. Curiosamente, otras variables asociadas con la retención de líquidos (clase funcional de la *New York Heart Association* III-IV y reflujo hepatoyugular), aunque no se estudiara si se asocian con recuperación de la FEVI, sí se han asociado con pronóstico clínico más adverso para los pacientes con MCA⁴. Si bien la fibrilación auricular se ha relacionado con peor pronóstico evolutivo, en el presente trabajo no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la tasa de fibrilación auricular (el 31% de los que recuperaron la FEVI frente al 42,4 de los que no; $p = 0,24$).

La abstinencia completa de alcohol se ha considerado tradicionalmente como un elemento fundamental para mejorar la FEVI y obtener un mejor resultado en MCA^{1-7,17}. Sin embargo, la necesidad de una abstinencia absoluta para mejorar la función cardiaca y el pronóstico en MCA es una cuestión polémica^{13,25}. Fauchier et al.¹ (2000) indicaron que en su estudio la FEVI mejoró del $27 \pm 11\%$ al $35,4 \pm 14,6\%$ en 28 pacientes con MCA que dejaron de beber alcohol, pero en el mismo estudio también informaron de que la FEVI mejoró del $30,7 \pm 11,7\%$ al $45,2 \pm 15\%$ en 8 pacientes no abstemios.

En contraste con ese estudio, Gavazzi et al.², al analizar una cohorte de 79 pacientes con MCA y 259 con MCD, indicaron que solo los pacientes que suspendieron el abuso del alcohol mostraron mejoría de la FEVI. Curiosamente, en ese estudio se incluyó en la misma categoría que los abstemios a los pacientes con MCA que redujeron la ingesta de alcohol a moderada. Nicolás et al.¹³ estudiaron posteriormente el efecto en la FEVI de controlar la ingesta de alcohol en MCA; encontraron que, tras un seguimiento de 4 años, la FEVI aumentó no solo en pacientes con MCA que cesaron completamente el consumo de alcohol, sino también en pacientes que redujeron el consumo de alcohol a < 60 g/día. En ese estudio, la FEVI solo empeoró en los 8 pacientes con MCA y persistente ingesta de alcohol > 80 g/día. Lamentablemente, en ese estudio no se realizó un análisis multifactorial ni se examinaron otros factores predictores de mejora de la FEVI. Los resultados del presente estudio están en línea con los de Nicolás et al.¹³ y son contrarios a los de otros estudios. Se encontró que la abstinencia alcohólica no se asoció con la mejoría de la FEVI, tanto en el análisis univariable como en el multivariable, y la recuperación de la FEVI fue similar entre los abstemios y los bebedores moderados. Por el contrario, y de modo similar que los resultados de Nicolás et al.¹³, ninguno de los 6 pacientes con MCA que continuaron consumiendo más de 80 g/día presentó una mejoría significativa de la FEVI.

A pesar de estos resultados, se sigue considerando que se debe recomendar el cese completo del consumo de alcohol en la MCA, debido a que para estos pacientes puede ser difícil mantener una ingesta de alcohol moderada, y el abuso grave de alcohol, que se asocia con mala evolución de la FEVI, podría reiniciarse. En este sentido, los llamados marcadores biológicos

del alcoholismo son útiles en el seguimiento de estos pacientes. Los principales son el volumen corpuscular medio eritrocitario, las enzimas hepáticas GGT y AST y la transferrina deficiente en carbohidratos, cuyos valores se elevan en relación con el consumo crónico de alcohol.

Limitaciones

El diagnóstico de MCA y la clasificación de los pacientes en abstemios o subgrupos de bebedores persistentes se basó en la ingesta de alcohol reconocida, lo que puede conducir a subestimarla.

La definición de MCA utilizada (> 80 g/día durante al menos 5 años) está ampliamente aceptada y se ha utilizado en varios estudios previos, pero probablemente conduzca a una infrarrepresentación de mujeres con MCA. La definición aceptada de MCA no tiene en cuenta el sexo o el índice de masa corporal. Se ha publicado que las mujeres son más sensibles a los efectos del alcohol. Además, el alcohol afecta al corazón a través de un efecto tóxico que depende de la cantidad de alcohol que llega al corazón. Dado que las mujeres suelen tener un índice de masa corporal más bajo, es plausible que puedan alcanzar concentraciones tóxicas con menor cantidad de alcohol.

Dada la amplitud temporal de la cohorte, no se pudo realizar resonancia magnética como prueba estándar a todos los pacientes. Tampoco se realizó biopsia endomiocárdica para descartar miocarditis en la mayoría de los casos, si bien el cuadro clínico de ninguno de los pacientes apuntaba a esta enfermedad.

Finalmente, la cohorte de estudio se obtuvo de un único centro de referencia, y esto puede haber motivado un sesgo de referencia hacia pacientes más propensos a abandonar o reducir el consumo de alcohol.

CONCLUSIONES

La recuperación de la FEVI se asoció con un pronóstico excelente en pacientes con MCA. El tratamiento con bloqueadores beta, la duración del QRS < 120 ms y la ausencia de tratamiento diurético fueron variables clínicas asociadas con la recuperación de la FEVI, mientras que la abstinencia completa del alcohol no lo fue. La recuperación de la FEVI fue similar en los pacientes con MCA que redujeron el consumo de alcohol a moderado y en los abstemios. Si se confirmara en otros estudios, una FEVI $> 40\%$ podría ser un objetivo clínico con implicaciones pronósticas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Ana Royuela su asistencia en el análisis estadístico.

FINANCIACIÓN

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Instituto de Salud Carlos III (Becas RD12/0042/0066 y PI15/01551), apoyado por el Plan Estatal de I+D+i 2013-2016: Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) «Una forma de hacer Europa».

CONFLICTO DE INTERESES

No se declara ninguno.

¿QUÉ SE SABE DEL TEMA?

- La MCA es una causa frecuente de MCD.
- Se ha descrito la recuperación de la FEVI en pacientes con MCA tras un periodo de abstinencia.
- Se desconoce el impacto clínico de la recuperación de la FEVI y qué factores predicen la recuperación en la MCA.

¿QUÉ APORTA DE NUEVO?

- Una recuperación significativa de la FEVI se asocia con un pronóstico clínico excelente en pacientes con MCA.
- El tratamiento con bloqueador beta, un QRS < 120 ms y la ausencia de tratamiento diurético se asocian con la recuperación, mientras que la abstinencia alcohólica no.
- Alcanzar una FEVI > 40% podría ser un objetivo clínico con implicaciones pronósticas para estos pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fauchier L, Babuty D, Poret P, et al. Comparison of long-term outcome of alcoholic and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2000;21:306–314.
2. Gavazzi A, De Maria R, Parolini M, Porcu M. Alcohol abuse and dilated cardiomyopathy in men. *Am J Cardiol*. 2000;85:1114–1118.
3. Guillo P, Mansourati J, Maheu B, et al. Long-term prognosis in patients with alcoholic cardiomyopathy and severe heart failure after total abstinence. *Am J Cardiol*. 1997;79:1276–1278.
4. Prazak P, Pfisterer M, Osswald S, Buser P, Burkart F. Differences of disease progression in congestive heart failure due to alcoholic as compared to idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 1996;17:251–257.
5. McKenna CJ, Codd MB, McCann HA, Sugrue DD. Alcohol consumption and idiopathic dilated cardiomyopathy: a case control study. *Am Heart J*. 1998;135:833–837.
6. Piano MR. Alcoholic cardiomyopathy: incidence, clinical characteristics, and pathophysiology. *Chest*. 2002;121:1638–1650.
7. Guzzo-Merello G, Cobo-Marcos M, Gallego-Delgado M, Garcia-Pavia P. Alcoholic cardiomyopathy. *World J Cardiol*. 2014;6:771–781.
8. Maisch B. Alcoholic cardiomyopathy. The result of dosage and individual predisposition. *Herz*. 2016;41:484–493.
9. Urbano-Marquez A, Estruch R, Navarro-Lopez F, Grau JM, Mont L, Rubin E. The effects of alcoholism on skeletal and cardiac muscle. *N Engl J Med*. 1989;320:409–415.
10. Kupari M, Koskinen P, Suokas A. Left ventricular size, mass and function in relation to the duration and quantity of heavy drinking in alcoholics. *Am J Cardiol*. 1991;67:274–279.
11. Mirijello A, Tarli C, Vassallo GA, et al. Alcoholic cardiomyopathy: What is known and what is not known. *Eur J Intern Med*. 2017;43:1–5.
12. Guzzo-Merello G, Segovia J, Dominguez F, et al. Natural history and prognostic factors in alcoholic cardiomyopathy. *JACC Heart Fail*. 2015;3:78–86.
13. Nicolás JM, Fernández-Solà J, Estruch R, et al. The effect of controlled drinking in alcoholic cardiomyopathy. *Ann Intern Med*. 2002;136:192–200.
14. Sánchez-Enrique C, Jorde UP, González-Costello J. Heart Transplant and Mechanical Circulatory Support in Patients With Advanced Heart Failure. *Rev Esp Cardiol*. 2017;70:371–381.
15. Guzzo-Merello G, Dominguez F, Gonzalez-Lopez E, et al. Malignant ventricular arrhythmias in alcoholic cardiomyopathy. *Int J Cardiol*. 2015;199:99–105.
16. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr*. 2015;28:1–39.e14.
17. Ballester M, Martí V, Carrió I, et al. Spectrum of alcohol-induced myocardial damage detected by indium-111-labeled monoclonal antimyosin antibodies. *J Am Coll Cardiol*. 1997;29:160–167.
18. CIBIS-II, Investigators, Committees. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial. *Lancet*. 1999;353:9–13.
19. Merlo M, Pyxaras SA, Pinamonti B, Barbati G, Di Lenarda A, Sinagra G. Prevalence and prognostic significance of Left ventricular reverse remodeling in dilated cardiomyopathy receiving tailored medical treatment. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:1468–1476.
20. Blehman I, Arad M, Nussbaum T, Goldenberg I, Freimark D. Predictors and outcome of sustained improvement in left ventricular function in dilated cardiomyopathy. *Clin Cardiol*. 2014;37:687–692.
21. Hofmann M, Bauer R, Handrock R, Weidinger G, Goedel-Meinen L. Prognostic value of the QRS duration in patients with heart failure: a subgroup analysis from 24 centers of Val-HeFT. *J Card Fail*. 2005;11:523–528.
22. Velavan P, Khan NK, Goode K, et al. Predictors of short term mortality in heart failure — insights from the Euro Heart Failure survey. *Int J Cardiol*. 2010;138:63–69.
23. Matsumura Y, Takata J, Ktaoka H, et al. Long-term prognosis of dilated cardiomyopathy revisited: an improvement in survival over the past 20 years. *Circ J*. 2006;70:376–383.
24. Broch K, Murbræch K, Andreassen AK, Hopp E, Aakhus S, Gullestad L. Contemporary outcome in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2015;116:952–959.
25. Movva R, Figueredo VM. Alcohol and the heart: to abstain or not to abstain? *Int J Cardiol*. 2013;164:267–276.